

SZERVES VÉKONYRÉTEGEK IMPULZUSLÉZERES LEVÁLASZTÁSA

Doktori (PhD) értekezés

Kecskeméti Gabriella

SZTE Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék

Fizika Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Hopp Béla

Tudományos főmunkatárs,

Szegedi Tudományegyetem, Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék

MTA Lézerfizikai Tanszéki Kutatócsoport

Szeged

2009

TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETÉS.....	2
2.	TUDOMÁNYOS ELŐZMÉNYEK	5
2.1.	Vékonyrétegek napjainkban és alkalmazásai	5
2.2.	Az impulzus lézeres vékonyréteg leválasztás	6
2.3.	A lézeres abláció	7
2.4.	A lézeres abláció alkalmazásai	10
2.4.1.	Ipari alkalmazás	10
2.4.2.	Orvostudományban való alkalmazás	10
2.4.3.	Műalkotások felületének tisztítása.....	13
2.5.	A PLD története-rövid időrendi áttekintés.....	14
2.6.	Vizsgált anyagok fontosabb tulajdonságai	17
2.6.1.	Fog	17
2.6.2.	Pepszin	18
2.6.3.	Poli-Hidroxi-Butirát (PHB)	20
2.6.4.	Poli-metil-metakrilát (PMMA)	23
2.6.5.	Keményítő.....	23
2.6.6.	Na-Alginát	24
2.6.7.	Fibronektin.....	24
2.6.8.	Endothel sejtnövekedést elősegítő anyag	24
2.6.9.	Kollagén.....	25
2.7.	A minták vizsgálatához használt módszerek	25
2.7.1.	Atomierő mikroszkóp (Atomic Force Microscope - AFM).....	25
2.7.2.	Pásztázó elektronmikroszkóp (Scanning Electron Microscope - SEM). 26	
2.7.3.	Profilométer	27
2.7.4.	Fourier-transzformációs infravörös (FTIR) spektroszkópia	27
2.7.5.	Ellipszometria	28
3.	CÉLKITŰZÉSEK.....	29
4.	KÍSÉRLETI TECHNIKÁK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK.....	31
4.1.	Impulzuslézeres vékonyréteg leválasztás kísérleti elrendezése	31
4.2.	Céltárgyak előkészítése.....	33
4.3.	Vékonyrétegek szerkezeti és morfológiai vizsgálatának módszerei.....	35
5.	KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK	36
5.1.	Fog vékonyréteg előállítása impulzuslézeres vékonyréteg építéssel.....	36
5.2.	A pepszin impulzuslézeres vékonyréteg építése.....	42
5.2.1.	Pepszin vékonyréteg leválasztása	42
5.2.2.	A vékonyrétegek enzimatis aktivitásának vizsgálata.....	45
5.3.	A szerves anyagokból történő anyageltávozás empirikus modellje	47
5.4.	A poli-hidroxi-butirát impulzuslézeres vékonyréteg építése	48
5.5.	Biológiai vékonyrétegek fs-os impulzuslézeres vékonyréteg építése- irányított sejtnövekedés megvalósítása	54
5.6.	A poli-metil-metakrilát ablációja és a leválasztott részecskék méretének vizsgálata	60
6.	ÖSSZEFOGLALÁS	66
7.	SUMMARY	69
8.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	72
9.	HIVATKOZÁSOK.....	73

1. BEVEZETÉS

Az utóbbi évtizedekben számos lézeres anyag-megmunkálási technológiát dolgoztak ki, melyek nagy részét már jó néhány területen alkalmazzák. Ezek közé tartozik az impulzuslézerek kifejlesztését követően bevezetett ún. impulzuslézeres anyagmegmunkálás is. Az emberiség régóta törekedett különféle tárgyak különböző felületi tulajdonságainak módosítására, pl. felületek mechanikai és kémia ellenálló képességének javítására. Ennek egyik lehetősége a felületek vékonyrétegekkel való bevonatolása, megfelelő módszerekkel. A tudományos ismeretek gyarapodása következtében pontosan meghatározhatóvá váltak az elérni kívánt paraméterek, tervezhetővé vált a rétegépítési munkafolyamat, új eljárások és új célok jelentek meg. Bevonatok leválasztására alkalmasnak bizonyultak többek között a fizikai gőzfázisú rétegleválasztási (Physical Vapour Deposition, PVD) eljárás különféle változatai és a kémiai gőzfázisú rétegleválasztási (CVD) technika is [1].

A hagyományos, mechanikai eszközökkel szemben a lézeres anyagmegmunkálás előnye hogy „elhasználódásról” a lézerfény esetén nem beszélhetünk. Ennek következtében a nyaláb megfelelő vezérlés esetén konstans megmunkálási minőséget garantál, valamint a lézerfény - természetéből fakadóan - nem szennyezi be a munkadarabot. Ez a tulajdonsága elengedhetetlen az orvosi, biológiai alkalmazások esetén, ahol különösen fontos az esetleges fertőzések átvitelének elkerülése. Az elmúlt évtizedek egyik ígéretes kutatási területe az excimer lézerek orvostudományban való alkalmazási lehetőségeinek bővítése. Ezen lézerek viszonylag nagy teljesítménye és alacsony hullámhossza alkalmas különböző anyagok megmunkálására anélkül, hogy azok komolyabb járulékos hőkárosodást szenvednének.

Vékonyrétegek előállítására egyre gyakrabban - de jelenleg többnyire csak laboratóriumi körülmények között - alkalmazott eljárás az impulzuslézeres leválasztás (Pulsed Laser Deposition, PLD). Doktori munkám során a kísérleteimben ezt a technikát alkalmaztam biológiai anyagok és polimerek vékonyrétegeinek előállításához. A lézereken alapuló technikákat a hagyományos eljárásokkal szemben egyre szélesebb körben használják ma már szerves vékonyrétegek előállítására is a folyamatok jobb kontrollálhatósága, speciális mintázatok készíthetősége miatt. A lézernyaláb tulajdonságai a megmunkálandó anyagoknak és az egyes felhasználásoknak

megfelelően változtathatóak. A PLD sokoldalú abból a szempontból, hogy megfelelő lézerparaméterek megválasztásával sokféle anyagból építhető vékonyréteg.

A PLD alapjelensége a lézerabláció, amelynek során egy nagyteljesítményű impulzuslézer nyalábját a céltárgyra fókuszálva, a besugárzás hatására a felületre merőlegesen plazmaállapotú anyagfelhő lép ki. Az eltávozó anyagfelhő tartalmazhat atomokat, molekulákat, elektronokat, ionokat, mikron-méretű szilárd és olvadt részecskéket. A tárguló plazmafelhő útjába egy hordozót helyezve, a plazma anyaga megfelelő kísérleti feltételek esetén annak felületére leválik, vékony réteget képezve. Noha egyetlen lézerimpulzus által viszonylag kevés anyag megy át a szubsztrátra, néhány ezer lézerimpulzussal már több μm -es vastagságú réteg hozható létre. A módszer egyik nagy előnye, hogy a folyamat során megfelelő kísérleti paraméterek mellett az anyag sztöchiometriája megmarad. A lézernyaláb és a céltárgy felszínén lévő lézerfolt tulajdonságai a megmunkálandó anyagoknak és az egyes felhasználásoknak megfelelően változtathatóak. [2]

Az impulzus lézeres vékonyréteg leválasztás az egyik legígéretesebb alkalmazott eljárás a szerves és szervetlen anyag leválasztási technikák között. Doktori munkám során célom volt olyan leválasztási paraméterek felkutatása, melyek alkalmazása esetén sérülékeny bioanyagokból az eredeti anyaggal megegyező tulajdonságú vékonyréteget lehet leválasztani. Ennek érdekében, munkám során különböző szerves anyagokon végeztem kísérleteket, ezek eredményeit külön fejezetekben mutatom be a dolgozatomban. Az értekezés első részében az abláció folyamatáról és a lézerimpulzusok hatására bekövetkező változásokról ejtek pár szót, valamint annak elterjedéséről különböző felhasználási területeken (ipari, orvosi, művészeti területeken). Ezt követően az impulzuslézeres vékonyréteg leválasztás folyamatát és a témában eddig publikált fontosabb eredményeket ismertetem, majd pedig a kísérleteim során alkalmazott anyagok legfőbb tulajdonságairól írok. A dolgozat második része a különböző kísérleti technikákat valamint vizsgálati módszereket foglalja össze, majd a nano- és femtoszekundumos lézerimpulzusokkal történő vékonyréteg építés során elért eredményeim kerülnek ismertetésre. Először a szervezetbarát fog-vékonyrétegek leválasztása, majd az emberi szervezetben is megtalálható egyik enzim, a pepszin vékonyréteg előállítására terén elért eredményeimet mutatom be. Ezután egy biopolimerből, a poli-hidroxibutirátból történő vékonyréteg növesztésére tett kísérleteimet és azok eredményeit valamint az irányított sejtnövekedést elősegítő vékonyréteg építési vizsgálataimat ismertetem. A poli-metil-metakrilát (PMMA)

polimerre vonatkozó kísérleteimet mutatom be, azt követően pedig az elért eredményeimet foglalom össze.

2. TUDOMÁNYOS ELŐZMÉNYEK

Ebben a fejezetben a dolgozatomban bemutatott vékonyrétegek készítésére irányuló kísérleteim teljesebb átláthatóságához szükséges rövid irodalmi összefoglalót adok meg.

2.1. Vékonyrétegek napjainkban és alkalmazásai

Általános elfogadott definíció a vékonyrétegekre nincsen, de szokásosan a vastagságuk alapján definiálják őket, azaz a μm -es és annál kisebb vastagságú rétegeket nevezik vékonyrétegeknek.

A különböző vékonyrétegek, bevonatok olyan tulajdonságot nyújtanak az anyagoknak, amellyel azok eredetileg nem rendelkeznek. Ez igaz mind a funkcionális, mind a dekoratív bevonatokra – függetlenül attól, hogy milyen anyagra viszik fel őket. Előállításuk főbb követelményei a jó reprodukálhatóság, a rétegvastagság és összetétel szabályozhatósága és a rétegek szennyeződésmentessége. A biológia anyagok és polimerek vékonyrétegeinek gyakorlati alkalmazási területeit említem meg az alábbiakban.

Az orvostudományban is számos vékonyréteg bevonatot alkalmaznak, mint például allergia elleni védekezésre, felület megóvásra, implantátumok esztétikusabbá, hatékonyabbá tételére [3], stb.. Nagyon gyakori az egyes fémekkel (nikkel, higany, arany, ólom, titán, ezüst, króm, stb.) szembeni allergia [4-5]. Az allergiás tünetek megelőzését az arany ékszerek pl. ródiumos bevonatolása teszi lehetővé [6]. Tekintettel arra, hogy nagyon sokféle bevonandó anyag van és nagyon sokféle módosítandó vagy létrehozandó tulajdonság, a bevonatok száma szinte végtelen [7].

A vékonyréteg optikai bevonatokat csaknem minden optikai rendszerben megtalálhatjuk. Szerepük a felületek optikai jellemzőinek módosítása. Az optikai rendszerekben lévő felületek a felületeken érintkező közegek tulajdonságainak megfelelően verik vissza vagy törik meg a fényt. Mivel ezek a tulajdonságok gyakran eltérnek a megkívánttól, optikai bevonatokat használnak a jobb eredmények elérése érdekében. A vékonyrétegek egy másik fontos szerepe a felületek védelme a nemkívánatos hatásoktól [8].

Érzékelőknek (szenzoroknak) olyan eszközöket nevezünk, amelyek valamilyen mérendő mennyiséget információt hordozó jellé alakítanak. A kémiai szenzorok, köztük

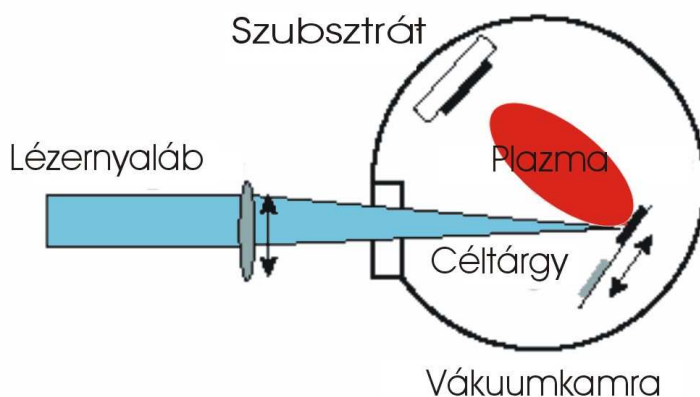
a gázérzékelők és bioszenzorok, melyek egyre nagyobb szerepet játszanak ma már nemcsak a műszaki gyakorlatban, mind valamilyenvékonyrétegekből épülnek fel. A kémiai szenzorok fő felhasználói jelenleg a járműtechnika és a környezetvédelem (égési folyamatok optimalizálása, káros kibocsátás csökkentése). Az orvosbiológiai érzékelők a szenzorok széles skálájának egyik csoportját alkotják. A mérendő mennyiség itt nem más, mint az élő szervezetekre jellemző valamilyen speciális paraméter. Az ideális érzékelők fontos jellemzője, hogy folyamatos átalakításra képesek a mintavételezés igénye nélkül úgy, hogy a mérendő paramétert illetve közeget nem módosítják. A bioszenzoroknál a felismerő anyag biológiai eredetű, és a szelektív felismerési lépés biológiai folyamatra épül, így lehet enzim-szubsztrát, antigén-antitest kölcsönhatás. A különböző biológiai anyagok közül legáltalánosabban az enzimeket használják. A jelátvitel lehet elektrokémiai, optikai vagy reakcióhő mérésén alapuló. Újabban készítenek felületi plazmon-rezonancia detektáláson vagy tömegváltozás mérésén alapuló (kvarckristály mikromérleg alapú) és felületi akusztikus hullám detektáláson alapuló kémiai és bioszenzorokat is [9]. Az érzékelők közvetlenül nem szolgáltatnak információt, annak megjelenítésére további eszközökre van szükség.

2.2. Az impulzus lézeres vékonyréteg leválasztás

A vékonyrétegek előállítására alkalmas módszereket a leválasztási folyamat természetét tekintve két fő csoportba oszthatjuk: ez lehet fizikai vagy kémiai. A fizikai módszerek a termikus és lézeres elpárologtatás, a molekulásugár-epitaxia (MBE) és az ionmaratás (sputtering) módszereit foglalják magukba. A kémiai módszerek gázfázisú és oldatos leválasztási technikák lehetnek.

A PLD technika elve nagyon egyszerű, talán a legegyszerűbb a vékonyréteg építési technikák között. A berendezés sematikus vázlatát a 1. ábrán mutatom be. A céltárgy ablálására külső energiaforrásként egy nagy teljesítményű lézert használnak. Választottak le rétegeket Nd:YAG, Nd:üveg lézerekkel, impulzus üzemű CO₂, sőt folytonos üzemű lézerekkel is, de leggyakoribb az UV excimer lézerek (ArF, KrF, XeCl) alkalmazása. Ezen lézerek „sikerüket” nagy impulzusenergiájuknak (akár több 100 mJ), rövid impulzusuknak (10-40 ns) és rövid hullámhosszuknak (193-308 nm) köszönhetik. Az UV tartományban jellemzően megnő az anyagok nagy többségének

abszorpciós együtthatója, a rövid impulzusidő pedig nagyobb teljesítménysűrűség elérését teszi lehetővé. Az elrendezés tartalmazza a vákuumkamrát, benne a céltágy- és a szubsztráttartóval. A vékonyréteg építés végrehajtható vákuumban, de a módszer ugyancsak alkalmas reagens környezetben (különböző gázokban pl. H_2 , CH_4 , N_2 , O_2), plazmagerjesztéssel történő leválasztásra is.



1. ábra: Az impulzuslézeres vékonyréteg leválasztási elrendezés vázlatos rajza [10].

A PLD sokoldalú abból a szempontból, hogy megfelelő lézerparaméterek megválasztásával sokféle anyagokból is építhető vékonyréteg.

A rétegépülés folyamata azonban nemcsak a hordozón megy végbe, hanem a céltárgyon is. Ezt a jelenséget inverz impulzuslézeres rétegépítésnek (Inverse Pulsed Laser Deposition, IPLD) nevezik, melynek folyamatát Szörényi és munkatársai tanulmányozták [11].

2.3. A lézeres abláció

Ahhoz, hogy a PLD során lejátszódó folyamatokat értelmezni tudjuk, ismernünk kell mindazokat az elméleti és kísérleti eredményeket, melyek e vékonyréteg-építési módszer alapfolyamatait írják le és magyarázzák. Az impulzus lézeres vékonyréteg építés alapjelensége az abláció, a rétegépítési mechanizmusban ezt alkalmaztam a céltárgyak anyagának átviteléhez.

Az excimer lézeres abláció jelenségét R. Srinivasan és V. Mayne-Banton fedezte fel 1982-ben [12]. Ennek lényege a következő: egy céltárgy felületét nagy energiájú

impulzuslézerrel besugározva robbanásszerű anyageltávozás következik be. Az eltávozott anyag helyén visszamaradt maratási gödör pereme éles, fala sima. Az anyag ablálásához vezető folyamat függ a lézer jellemző paramétereitől (hullámhossz, impulzushossz, energia sűrűség) és a céltárgy optikai, topológiai és termodinamikai tulajdonságaitól. Amikor a lézersugárzás elnyelődik a szilárd céltárgyban, az elektromágneses energia először elektromos gerjesztéssé, azután hő-, kémiai-, és mechanikai energiává alakul át, így okozva az elpárolgást, az ablációt, a gerjesztést, a plazmaképződést és az anyageltávozást. Az eltávozó csóva atomokat, molekulákat, elektronokat, ionokat, mikronos méretű szilárd szemcséket és olvadék cseppeket tartalmaz. Az anyagfelhőben található részecskék kémiai összetételét alapvetően a céltárgy anyaga és a kísérleti paraméterek szabják meg. A részecskék típusát az abláló impulzus energiasűrűsége, intenzitása befolyásolja. Kis energiasűrűségek esetén az anyagfelhő alapvetően semleges atomokból, molekulákból és nagy molekuláris töredékekből áll. Ahogy növekszik az abláló impulzus energiasűrűsége, intenzitása, úgy nő a gerjesztett részecskék, ionok, és kisebb molekulásúlyú részecskék száma. Az intenzitás növelésével az anyagfelhő egyre inkább plazmaként viselkedik, ionok és elektronok alkotját.

A d maratási sebesség (a maratási gödör mélysége osztva az impulzusok számával) és az F energiasűrűség között a következő összefüggés áll fent:

$$d = \frac{1}{\alpha} \ln \left(\frac{F}{F_k} \right), \quad (1)$$

ahol α a céltárgy anyagának lineáris abszorpciók együtthatója, F_k pedig a küszöb-energisűrűség (ami alatt az abláció egy impulzus esetén nem megy végbe). A maratási sebesség segítségével megadható az a maximális térfogat, ami egy impulzussal a céltárgy anyagából a hordozónk felületére ideális esetben leválhat. Azért maximális, mert a folyamat során főként a gőznemű anyag egy része a szóródás miatt nem jut el a szubsztrátra. Az alkalmazott F energiasűrűség esetén az eltávozó anyag mennyisége állandó besugárzott felület esetén impulzusonként állandó, feltéve, hogy minden lézerimpulzus hasonló tulajdonságú területet ér. Ekkor tehát a céltárggyal szemben elhelyezett szubsztrátra is mindig azonos mennyiségű anyag rakódik le impulzusonként, azaz a rétegvastagság és az impulzusszám között lineáris összefüggés tapasztalható. A rétegpépülés történhet egyrészt az anyagfelhő részecskéinek felszíni adszorpciójával, másrészt a nagy energiájú részecskék implantálódásával. A kialakuló réteg szerkezete és

tulajdonságai az őket létrehozó részecskék kémiai minőségétől és mozgási energiájától függnék. A nagy energiájú részek egyrészt elősegítik az adszorbeált atomok diffúzióját. Ugyanakkor nagy energiájuk révén kémiai kötéseket bonthatnak, felszín alatti hibahelyeket hozhatnak létre, vagy éppen porlaszthatják is az épülő réteget. Polimerek impulzus lézeres ablációjakor Srinivasan és társai leírták, hogy az UV abláció során eltávozó anyag jelentős százaléka klasztereket alakít ki [13]. Ez a folyamat nagyban függ az alkalmazott lézer hullámhosszától és a PLD kamrában lévő nyomástól. Garrison és társai [14] lejegyezték, hogy a kirepülő klaszterek mérete és eloszlása függ az abláció mechanizmusának természetétől (termális vagy fotokémiai) is.

Az ablációs folyamat leírására született elméletekből az első a fotokémiai modell, amely szerint ha a céltárgy felületére beeső fotonok elegendően nagy energiával rendelkeznek, akkor energiájuk egy részével képesek az abszorbeáló molekula kémiai kötéseit felhasítani [15]. A fennmaradó rész a felbomlott fregmentumok mozgási energiáját növeli meg, ami az anyag gyors fotodekompozíciójához vezet. Ennek a modellnek a segítségével meg lehet magyarázni a maratási kráter tiszta, éles morfológiáját. A fototermális modell szerint az elnyelt fotonok energiája hővé alakul, ezáltal a besugárzott térfogat hőmérséklete megemelkedik, majd elérve a forráspontot vagy a bomlási hőmérsékletet, intenzív anyageltávozás indul meg [16]. Az ablációs folyamat során az elnyelt energia egy része hődiffúzióval a tömbben szétoszlik.

A hődiffúzió, a termalizáció során kialakuló hőmérsékleten és az impulzusenergián túl jelentősen befolyásolja, hogy az impulzus ideje alatt a keltett hő mekkora mélységbe jut el. A hődiffúzió által megszabott hődiffúziós hossz függ a közeg hődiffúziós együtthatójától és az impulzus idejétől.

$$L = 2 \cdot \sqrt{D \cdot \tau} = 2 \cdot \sqrt{\frac{k}{\rho \cdot c} \cdot \tau} \quad (1)$$

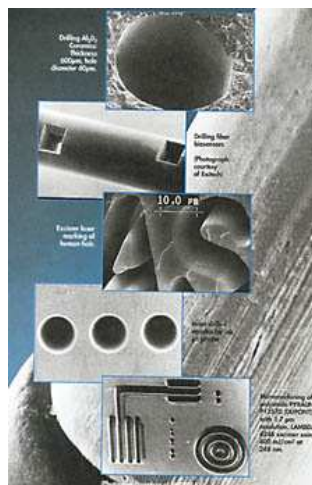
D a hődiffúziós együttható, k a hővezetési tényező, ρ a sűrűség, c a fajhő és τ az impulzushossz. A különböző impulzushosszú lézerek az abláció szempontjából alapvetően a hődiffúziós hosszban térnek el. Ha ugyanazt az energiát egy ns-os és fs-os impulzussal juttatjuk a céltárgy anyagába, akkor előbbi esetén a hődiffúziós hossz 1000-szer nagyobb lehet.

2.4. A lézeres abláció alkalmazásai

2.4.1. Ipari alkalmazás

Az elmúlt évtizedekben az ipari lézerek jelentősége és száma folyamatosan növekszik a különféle anyagmegmunkálások területén. Ezek közül a vágás terjedt el a legszélesebb körben, ami az abláción vagyis az anyag eltávolításának elvén alapszik. Az eljárás rendkívül rugalmas, sokoldalúan használható és nagyon jó minőségű vágási felületet ad. Az anyagok széles skálája vágható lézerrel, függően az anyag optikai tulajdonságaitól, az anyag olvadáspontjától, hővezető képességétől. A lézeres vágás nagy előnye, hogy tetszőleges bonyolultságú, kis és nagyméretű alakok, alkatrészek egyaránt kivághatók, ahogy az 2. ábrán is látható.

Az abláció másik, hétköznapiabb alkalmazása a lézeres gravírozás, amely során az anyag egy vékony felületi rétegét az előbbieknél lényegesen kisebb teljesítményű lézerfény távolítja el. Szinte minden anyagot képesek megmunkálni ily módon.



2. ábra: Lézeres megmunkálás a különböző anyagokon, pl.: kerámiába fúrt gödör, vékony bioszenzor-szálba vágott lyuk, emberi hajszálba gravírozott betűk [17].

2.4.2. Orvostudományban való alkalmazás

A lézeres abláció hatásának vizsgálatát és az emberi szövetekre irányuló kísérleteket 1970-es években kezdték és az első műtétet 1975-ben végezték Dr. Alfons Hofstetter és

munkatársai [18]. A lézerek alkalmazása a hagyományos eszközökkel és eljárásokkal kombinálva új és hatékony lehetőségeket teremtettek az orvostudományban.

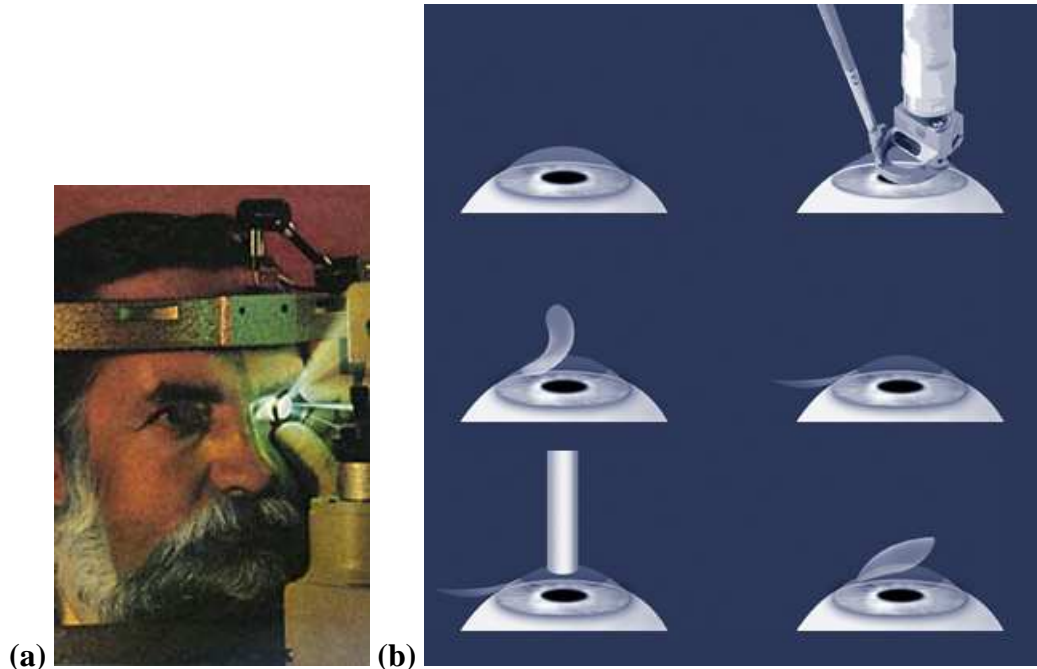
Eredményesen alkalmazzák az ablációt az epeutakban levő kövek szétrobbantására. Az egyik leggyakoribb urológiai betegség a húgyúti kövesség, eltávolítása ma már percutan (bőrön keresztül) történhet. Ennek során célzott szúrást ejtenek a vesébe, speciális endoszkópot bevezetve, a követ összezúzzák lézer (Nd-Yag, $\lambda=1060$ nm) segítségével (3. ábra), majd a törmelékét fogóval, illetve szívóval eltávolítják [19].



3. ábra: Lézeres vesekőtörés [20].

Az elmúlt évtizedekben ugrásszerű fejlődési pályára kerültek a refraktív szemsebészeti eljárások. A szaruhártya felszíni domborulatának átalakítását már nem a sebészkes, gyémánt szike, hanem annál sokkal kifinomultabb és precízebb lézernyaláb végzi, akár a felszínen (PRK-(PhotoRefraktív Keratektomia), LTK-(Lézeres Termális Keratoplasztika) akár a lebenykészítést követően a hártya belsejében (LASIK) [21]. Manapság a refraktív sebészet legalapvetőbb segédeszköze az ArF excimer lézer (193 nm), mellyel egyaránt korrigálható a rövidlátás, a távollátás és az asztigmia is. Az ultrastruktúrális, csak bizonyos szöveti mikrokörnyezetre korlátozódó lézer-szöveti kölcsönhatás alapját az a 6,4 eV-os fotonenergia képezi, amely elegendő a szaruhártya szövetét felépítő szerves vegyületek kovalens kötéseinek felbontására. Amennyiben a fotonkoncentráció, vagyis a lézerfény energiasűrűsége egy bizonyos kritikus szintet meghalad, a felbomlott kémiai kötések nem rekombinálódnak többé, azaz a szövet ablatív módon lebomlik. A viszonylag nagy teljesítményű, ultraibolya lézerfény a szövetben nagyon kis távolságon belül elnyelődik, így nagy pontossággal képes eltávolítani a szaruhártya felső sejtrétegeit anélkül, hogy a környező sejtek

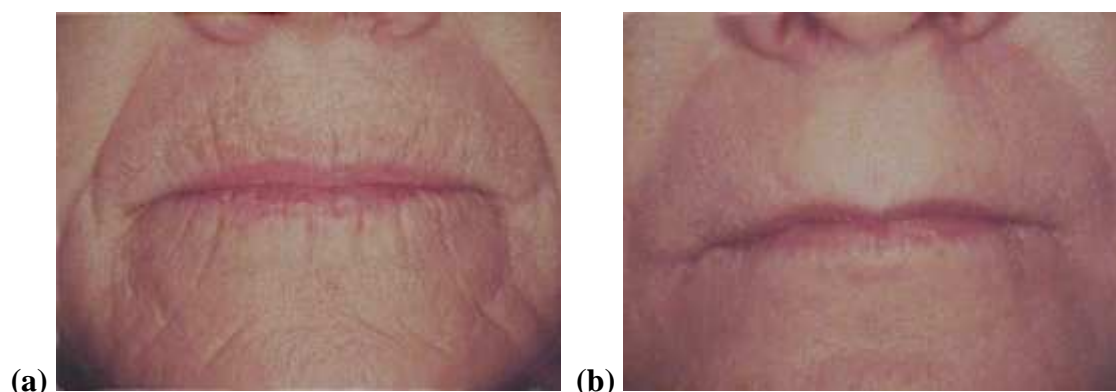
károsodnának, azaz viszonylag kis traumát jelentő beavatkozással módosítható a felszín. A lézeres szemvizsgálat és az azt követő szemkorrekciós műtétek menetének sematikus vázlata a 4. a), b) ábrán látható.



4. ábra: (a) A lézeres szemvizsgálat és a (b) szemkorrekciós műtétek menetének sematikus vázlata [22-23].

A szemészeken kívül a plasztikai sebészek is előszeretettel alkalmaznak lézereket különböző szépészeti beavatkozásoknál. Legfőképpen a bőrfiatalító kezeléseknél nagy jelentőségű az abláció jelenségének használata. A bőrmegújítás egyik legújabb és leghatékonyabb formája a lézeres hámlasztás. A lézeres kezeléseket már több éve használják az öregedés és a környezeti hatások külső nyomainak megszüntetésére. A bőrfelület egyenetlenségeinek korrigálására, a ráncok kisimítására, és a bőrhibák eltüntetésére kitűnően alkalmazható a módszer [24]. A mélyrétegű lézeres eljárások alternatívájaként megjelentek a hagyományos ER:Yag lézerek ($\lambda=2940$ nm). Népszerűségük azon egyedülálló tulajdonságuk miatt nőtt rohamosan, hogy képesek a felületi bőrrétegek finomabb hámlasztására, így a bőr regenerálódási ideje 2-3 hétre rövidült. A kezelés során ezredmilliméter pontossággal beállítható a kívánt beavatkozás mélysége, így pontosan kivitelezhető a kezelés kimenetele. Az 5 a), b) ábrán látható egy páciens bőrének kisimulása a lézersugaras bőrmegújító kezelés után. A pásztázó lézerfény néhány 10 mikrométer vastagságban lefejt az elhalt hámsejteket, és közben

nem sérti az alsóbb, egészséges sejteket. A kezeléseket három hetenként végezve, apró lépésekben fokozatosan és hatékonyan újítható meg a bőr [25].

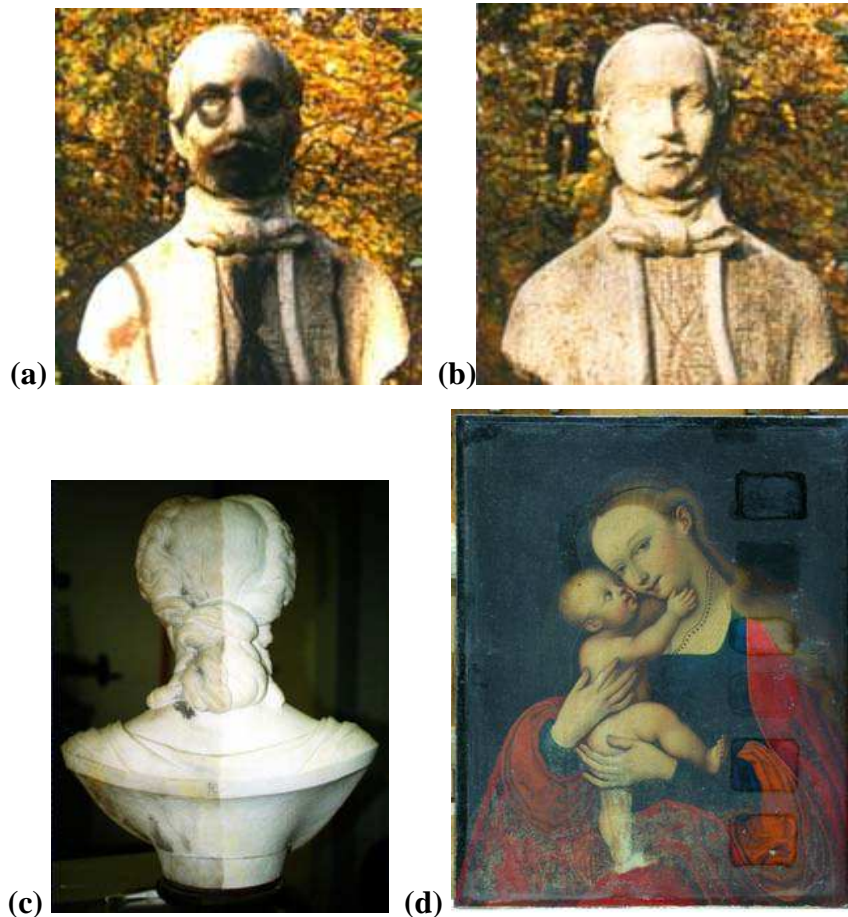


5. ábra: A páciens arca a lézersugaras bőrmegújító kezelés előtt (a) és után (b)[26].

2.4.3. Műalkotások felületének tisztítása

A kulturális javak olyan tárgyak (szobor, képkeret, festmény), írásos emlékek, művészeti alkotások, gyűjtemények, amelyek pótolhatatlan művelődéstörténeti értékeket képviselnek. Műalkotások állapotát, autentikusságát megőrző kezelések esetén beszélünk restaurálásról, melyek nem engedik meg az eredeti anyagok cseréjét. A restaurálás célja a kulturális örökséghez tartozó tárgyak állagmegóvása, esztétikai- és történeti épségének helyreállítása olyan eljárással, ami biztosítja azok jövőbeni fennmaradását és ezen közben nem roncsolja magát a céltárgyat.

Természetes kövekből készült épületek és szobrok felületének tisztítására többféle eljárás ismert. A lézeres (KrF, $\lambda=248$ nm; XeCl, $\lambda=308$ nm) felülettisztítás lényege, hogy néhány nanoszekundum alatt nagy teljesítményűrűséggel ($10^8 \dots 10^9$ W/cm²) „világítják” meg a felületet [27], melyeknek hatására a felületi réteg hirtelen felhevül és lerobban a felületről. A módszer lényege, hogy a megfelelően megválasztott lézersugár energiája kizárólag az eltávolítandó szennyeződésben nyelődik el. Lézerrel (KrF, $\lambda=248$ nm) tisztítható például a lerakódások miatt megfeketedett festmények felülete is [28]. Restaurátor szakemberek szerint ez a legkíméletesebb, vegyszermentes felülettisztítási módszer. Néhány példa a tisztítás előtti és utáni állapotokra a 6. a), b), c), d) ábrákon látható.



6. ábra: (a,b) Grafiti eltávolítása kültéri szobrokról (Wörösmarty mellszobor, Margitsziget), (c) Kisfaludi Stróbl: Lippainé mellszobor lézersugaras restaurálása [29] (d) lézerrel megtisztított festmény [30].

2.5. A PLD története-rövid időrendi áttekintés

Az első nagyteljesítményű rubin lézer megalkotása után szinte azonnal megindultak a vele kapcsolatos kísérleti kutatások is, lehetőség nyílt a nagyintenzitású lézersugár szilárd felülettel (Ready, 1963; White, 1963) [31-32], folyadékkal (Askar'yan et al., 1963) [33], és gáz-halmazállapotú anyagokkal (Meyerand, and Haught, 1963) való kölcsönhatásának elméleti- és kísérleti tanulmányozására. Az első ablációs kísérletet 1962-ben végezték, rubin lézer fényével párologtattak szilárd anyagokat [34]. Mivel bizonyos anyagok könnyen párologtak lézeres besugárzás hatására, felmerült annak lehetősége, hogy a nagy intenzitású lézeres besugárzás

alkalmazható lehet vékonyrétegek készítésére, amit néhány évvel később igazoltak is. Az első ilyen irányú kísérletet és az első beszámolót 1965-ben Smith és Turner (Smith és Turner, 1965) [35] készítette, akik rubin lézert használtak szupravezető, dielektromos és fémorganikus anyagok vékonyrétegének előállításához. Az általuk akkoriban alkalmazott kísérleti elrendezés az alapja a jelenleg használtaknak is. Az 1970-es években két nagy fejlesztés adott új irányt a PLD kutatásoknak. Az első nagy áttörés 1970-ben történt meg, amikor megjelent az elektromos Q-kapcsolás, amivel létre tudtak hozni rövid impulzusokat, és 10^8 W/cm^2 csúcsteljesítmény-sűrűséggel érhetek el [36]. A második jelentős technikai előrelépés egy nagyteljesítményű másod harmonikus generátor kifejlesztése volt, amelynek segítségével ugyancsak rövid hullámhosszú fényimpulzusokat lehet létrehozni. Mindkét technikai fejlesztés tovább szélesítette az anyagok felhasználási lehetőségeit és növelte az előállított rétegek minőségét. A néhány 10 ns-os impulzusok alkalmazásának köszönhetően tovább megnövekedett a módszer során alkalmazható anyagok száma: a PLD technikával sikeresen leválasztott vékonyrétegek esetén az 1991-es évben ez az érték 128 volt, míg 2000-ben már 200 fölé emelkedett a hordozókra növesztett különböző anyagok száma [37].

A lézertechnológia gyors fejlődése miatt a PLD technikában a rubinlézert hamarosan felváltották a CO_2 lézerek (Hass és Ramsey, 1969) [38] és Nd:üveg lézerek (Schwarz és Tourtellotte, 1969) [39]. Ezek a lézerek nagyobb frekvenciával működtek, mint a rubin lézerek, így könnyebb volt megfelelő vastagságú vékonyréteget létrehozni. Schwarz és Tourtellotte 1969-ben készített először PLD módszerrel ferroelektromos vékonyréteget. Félvezető rétegeket és szuperrácsokat növesztettek PLD technikával (Cheung és Magee, 1983; Dubowski és munkatársai, 1985) [40-41], Nd:YAG lézer segítségével CdTe és más Cd bázisú rétegeket hoztak létre. 1985-ben Lubben és munkatársai szilíciummal végzett PLD-s kísérleteinek eredményei is ígéretesek voltak [42]. A PLD fejlesztésében megjelenő irányzatok közé tartozik pl. oxidok növesztése félvezetőkre, úgymint az YSZ/Si (Fork et al., 1990) [43] MgO/GaAs (Fork et al., 1992; Prusseit et al., 1992) [44-45]. Narayan és munkatársai 1992-ben Si szubsztrátra építettek TiN epitaxiális réteget [46]. 1992-ben Rengan és Narayan garfit céltárgy alkalmazásával gyémánthoz hasonló szerkezetű szén vékonyréteget hoztak létre [47].

Hansen és Robitaille kimutatták, hogy néhány egyszerű polimerből impulzus lézeres besugárzással képesek vékonyrétegeket leválasztani [48]. A közelmúltban más módszerekkel is állítottak elő polimer filmeket, pl. vákuumos párologtatással (Mirsa et al., 1991) [49], plazma polimerizációval (Shen és Bell, 1979; Yasuda, 1985) [50-51],

elektrokémiai polimerizációval (Malhotra et al., 1990) [52], elektromos mezővel segített kémiai gőzfázisú leválasztással (Tatsuura et al., 1990) [53]. PLD módszerét alkalmazva sikerült polimerekből, mint pl. polietilén, polikarbonát [54-55], poli-metil-metakrilát [56-57], polietilén-glikol [58], poli-anilin [59], teflonból [60] is vékonyrétegeket leválasztani.

Már 1965-ben Smith és Turner megpróbáltak biológiai anyagokból is vékonyréteget leválasztani, bár a kísérleteiket követő 20 évben nem sokan próbálták utánozni őket. Smith és munkatársai fukszin (egy szerves festék) és Ni-dimetil-glioxim (egy festékekben, kozmetikumokban alkalmazott pigment) vékonyrétegek előállítására tettek kísérletet [35]. A szerves vékonyrétegek PLD-vel történő előállítása a 90-es években lett szélesebb körben elterjedt kutatási téma. Fehérjékből és enzimekből is sikerült PLD-vel vékonyrétegeket létrehozni, 1990-ben Nelson és munkatársai bizonyították, hogy DNS molekulák másolhatók át sértetlenül impulzuslézeres besugárzás alkalmazásával [61]. 1998-ban Phadke és Agarwal demonstrálta, hogy nátrium-dodecil-szulfátban diszpergált glukóz-oxidáz enzimből KrF excimer lézer és Nd:YAG harmadik felharmonikusának (355 nm) alkalmazásával az enzimátikus képességét megőrző vékonyréteg készíthető [62]. Ugyanezen elrendezést alkalmazva riboflavin-foszfolipid keverék vékonyréteget állítottak elő, melyről kimutatták, hogy az alkotó molekulák megőrizték strukturális és funkcionális jellemzőiket [63]. Tsuboi és munkatársai selyem fibroin (egy egyszerű fehérje, amit az orvostudományban és a bioelektronikában is alkalmaznak) vékonyréteget állítottak elő különböző hullámhosszú excimer lézereket (248 és 351 nm) alkalmazva [64]. Az infravörös spektroszkópiai méréseik szerint a 351 nm-es lézer alkalmazásával készített vékonyréteg kémiai összetétele megegyezett a kiinduló tömb anyagával [65].

A csont helyettesítésére is alkalmas jó minőségű hidroxipatit réteget először 1992-ben választottak le PLD módszerével [66]. Napjainkban a szájsebészetben és ortopédiában sokféle implantátumot alkalmaznak, melyek szervezetbe való beépülésének alapkövetelménye a biokompatibilitás. A csontokba ültetett, implantátumok esetében fontos az oszteointegráció, melynek során az implantátumok felszínén lévő mikropórusokba közvetlenül belenőnek a kötőszöveti sejtek. A tapasztalatok azt mutatták azonban, hogy a fogimplantátumok az esetek bizonyos százalékában kilökődnek a szervezetből, vagyis a csontintegráció nem jön létre. Az implantátum felületének érdesítésével – például lézeres ablációval [67] – az érintkezési felület és ezáltal a csontsejtek tapadási képessége megnő, ami rövidebb gyógyulási

időtartamhoz vezethet [68]. Ilyen bevonatokat már többféle módszerrel is előállítottak, például impulzuslézeres vékonyréteg építéssel [69], elektroforetikus- [70] és elektronnyalábos leválasztással [71] is.

Az egyik legsikeresebb és leggyorsabban fejlődő PLD alkalmazás tehát az orvosi biológia területén figyelhető meg. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy megfelelő kísérleti körülmények esetén mind a nanoszekundumos, mind pedig a femtoszekundumos PLD alkalmas biológiai, biokompatibilis vékonyrétegek leválasztására [72-73]. Bár a lézersugárzás erősen roncsoló fototermális és kémiai hatása miatt a hosszúlancú, összetett, szerves molekulákat tartalmazó céltárgyakból azonos összetételű vékonyrétegeket csak nagy körültekintés mellett, igen szűk paraméter tartományban tudtak előállítani.

2.6. Vizsgált anyagok fontosabb tulajdonságai

Mivel a nagy energiájú lézernyaláb közvetlen és közvetett hatására a molekulaszervezet meglehetősen ellenőrizhetetlen módon bomlik fel, a szerves anyagok UV fotoablációja általában alkalmasabb anyageltávolításra, mint vékonyréteg-építésre. Mindazonáltal spektroszkópiai vizsgálatok bizonyítják, hogy megfelelő leválasztási paraméterek és kísérleti körülmények mellett a PLD technológia is alkalmas eszköz lehet sztöchiometrikus vékonyrétegek leválasztására sérülékeny biológiai anyagokból.

Dolgozatomban az alább felsorolt szerves anyagokból álló vékonyréteg leválasztásainak lehetőségével foglalkoztam. A céltárgyak kiválasztásánál az előállítandó biológiai, biokompatibilis vékonyrétegek gyakorlati alkalmazási lehetőségei motiváltak, vizsgáltam azt is, milyen orvosi alkalmazásban lehetnének alkalmazhatók (fog és PHB). Ennek megfelelően röviden ismertetem az általam alkalmazott céltárgy anyagokat, s azok főbb jellemzőit.

2.6.1. Fog

Bár az excimer lézerek viszonylag nagy teljesítménye és alacsony hullámhossza alkalmas a fog keményszöveteinek megmunkálására, anélkül hogy azok komoly

hőkárosodást szenvednének, a fogászatban még nem terjedt el gyakorlati használatuk. [74].

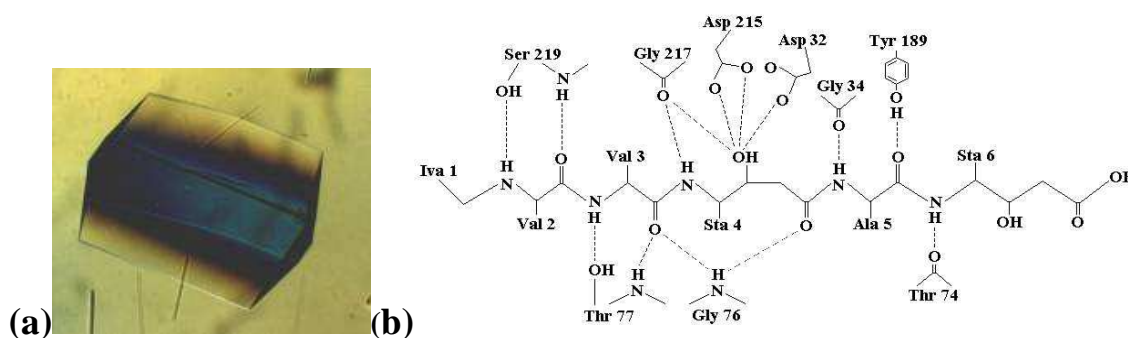
Először röviden tekintsük át a fog részeit. A fog egy kemény szerv, amelyet egy látható korona és egy, az állcsontokban rögzülő gyökér alkot. Fő funkciója a táplálék megragadása és felaprózása. Az embernél szerepet kapnak a hangképzésben, az esztétikai megjelenésben, egyes állatoknál pedig fegyverként szolgálnak. A fog külső rétegei különböző mértékben elmeszesedett szövetekből épülnek fel. Fő tömegét a kötőszöveti eredetű dentinállomány alkotja, amelyet a fog koronáján a hám eredetű zománcállomány, a gyökéren pedig a szintén kötőszöveti eredetű cementállomány borít.

A dentin, sárgásfehér színű, fénylő, a csontszövethez hasonló állomány, amely mészsókban gazdagabb, viszont kollagén rostokban szegényebb a csontnál. A dentin a zománcnál kevésbé kemény, rugalmas, élő szövet, mely 72%-ban szervetlen sókból, 28%-ban szerves anyagokból és vízből áll. A csonthoz hasonló szerkezetű, benne sejtek nincsenek. A fog zománcállománya, hám eredetű, porcelánszerűen, kékesen fénylő, a fog koronáját kupakszerűen borító réteg; az ember és a gerincesek testének legkeményebb szöve. A fogzománc 96,5%-ban szervetlen sókból, 3,5%-ban szerves anyagokból és vízből áll, vegyi összetétele: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Legvastagabb a fogkorona csücskén (2-2,5 mm), a fognyakon fokozatosan vékonyodik. A teljesen kifejtett fogzománc élettelen szövet, gyakorlatilag anyagcseréje nincs, és ha megsérül, új zománc nem képződik, mivel a prizmák elmeszesedett zománcképző sejtek termékei, emiatt újból képződni képtelenek. [75]. A fogcement egy elmeszesedett kötőszövet, ami a fogak gyökereit fedi. Szerkezetében a csontra hasonlít, de több szempontból el is tér attól: nem tartalmaz ereket, idegeket, felszívódásra kevésbé képes. Mineralizáltsági foka a zománcnál és a dentinnél alacsonyabb, de a csonténál magasabb, így 60 tömegszázalékát hidroxil-apatit kristályok teszik ki, 27%-át kollagén rostok és 13%-át víz. A cementréteg a gyökércsúcsnál és a gyökérelágazódásoknál a legvastagabb, a fognyak fele folyamatosan elvékonyodik. A vékonyréteg építés során igazából ezt a részét használtam fel a fogaknak.

2.6.2. Pepszin

A pepszin 1836-ban Schwann által felfedezett emésztőenzim a gerincesek és az ember gyomornedvében. Az enzimek a szervezetben lejátszódó folyamatok

reakciósebességét növelő anyagok, biokatalizátorok. Mint minden katalizátor, ezek is csak olyan folyamatok lejátszódását segítik elő, amelyek egyébként is végbemennének, de a reakció lényegesen lassabban játszódna le. Az enzimek az aktiválási energiát csökkentik. Minden enzim fehérje, emiatt működésük erősen függ a hőmérséklettől és a pH-tól, mindegyikre jellemző egy hőmérséklet- és pH-optimum. Az optimális pH rendszerint az 5-9 tartományba esik, de pl. a gyomorban termelődő emésztőenzim, a pepszin esetében ez 2 körüli. Az optimális hőmérséklet általában 40 °C fok környékén van. A magasabb hőmérséklet növeli a reakciósebességet, de a túl magas az enzimek denaturálódását okozza. Az enzimek specifikusak, csak egy adott vegyület (vagy vegyület csoport) reakcióját katalizálják, amely képes a kérdéses fehérje térszerkezetéből és energetikai viszonyából adódóan ahhoz kapcsolódni az ún. aktív centrumon. A pepszin egy 34500 mol tömegű protein, amely 19 különböző aminosavból áll [76]. A 7. a), b) ábrán a kristályos pepszinről készült képet és a molekula struktúráját láthatjuk.



7. ábra: Kristályos pepszin (a) [77] és a pepszin szerkezete (b) [78]

Az emlősök táplálékuk fehérjetartalmának emésztését a gyomorban kezdik meg. A gyomor falában lévő sejtek pepszinogént termelnek, amelynek önmagában semmiféle fehérjebontó hatása nincs. A pepszinogént Herritt és Northrop izolálta sertésgyomorból, szintelen, tűs kristály, molekulatömege kb. 42500. A gyomorba jutva érintkezik a gyomor savtartalmával (sósav) és az erősen savanyú közeg (pH=2) hatására aktív pepszinné alakul át. Az átalakulás során 1 mol pepszinogénből 5 peptid képződik, kb. 1000 mindegyik mol tömege, valamint 1 mol inhibitor és 1 mol pepszin. A pepszinogén tehát a pepszin prekursora, proenzimje [79].

A pepszin a természetben előforduló csaknem minden fehérjét képes bontani. Kivételt az állati szervezetekben vázanyag szerepet betöltő, hálózatos szerkezetű szkleroproteinek (pl. hajkeratin), továbbá az elasztin és a nyers kollagén képez. Csak kevés protein ellenálló a pepszinnel szemben, így pl. a fibroin és a mucin a gyomornyálkahártyában, amelyek a gyomor peptolitikus „önemésztését” gátolják meg. A hőmérsékleti optimuma 37 °C (testhőmérséklet), pH-optimuma 1,5-2,0 (ezt a gyomor sósava biztosítja).

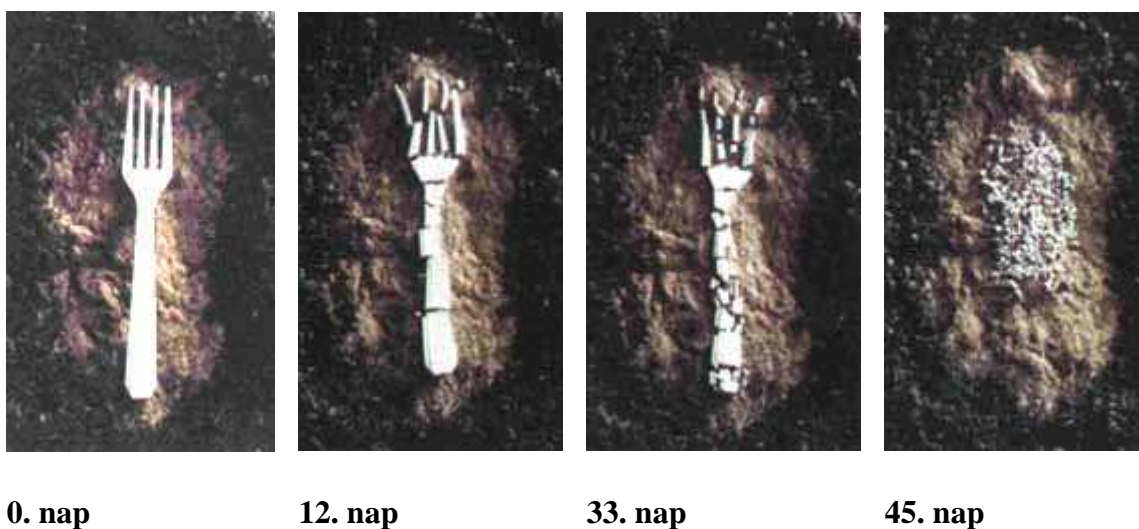
A pepszin aktivitása igen nagy. Kedvező feltételek között egy pepszin-készítmény saját súlyának több ezerszeresét képes megemészteni. Ezt szemlélteti, hogy 500 g pepszin néhány óra alatt kb. 20 t húst tud megemészteni, és pár perc alatt 4 millió liter tejet alvaszt meg. Ipari előállítását vágóhídi állatok gyomornyálkahártyájából történik, vizes alkoholos vagy glicerines (5%-os) kivonással [80].

2.6.3. Poli-Hidroxi-Butirát (PHB)

A világon mindenütt drasztikusan nő a műanyagok gyártásának és felhasználásának mértéke, a polimerek egyre vonzóbb alternatívájává váltak számos egyéb anyagnak, például a fémeknek, a papírnak, az üvegnek és gyakorlatilag mára már minden ipari szektorban helyet kaptak. Olyan területeken is egyre nagyobb teret hódítanak, ahol néhány éve még elképzelhetetlennek tartottuk volna alkalmazásukat. Ez elsősorban a vegyipar ugrásszerű fejlődésének köszönhető. Az elmúlt évtizedekben olyan új műanyagok kerültek kifejlesztésre, melyek jobb mechanikai tulajdonságokkal, hőállósággal, zaj és rezgéscsillapító képességgel rendelkeznek, a környezeti hatásokkal szemben ellenállóbbak (korrózió, vegyi anyagok, környezeti hőmérséklet, napfény és egyéb sugárzások) ráadásul lényegesen kisebb sűrűségűek, mint az általuk kiváltott anyagok [81].

A biopolimerek széleskörű alkalmazása elsősorban változatosságuknak és kedvező áruknak tulajdonítható. A 8. ábrán egy politejsavból készült műanyag villa látható, ami néhány hét alatt elbomlik. A polimerkémia a 20. század első harmadában olyan típusú műanyagokat kezdett gyártani, amelyek közelebb álltak a természethez. Ezek a műanyagok tehát előbb-utóbb bonthatók a bioszféra természet adta eszközeivel (napfény, hő, nedvesség, mikroorganizmusok). Bennük az a közös, hogy a polimer láncot nemcsak szénatomok alkotják, hanem helyenként oxigén vagy nitrogén atomok

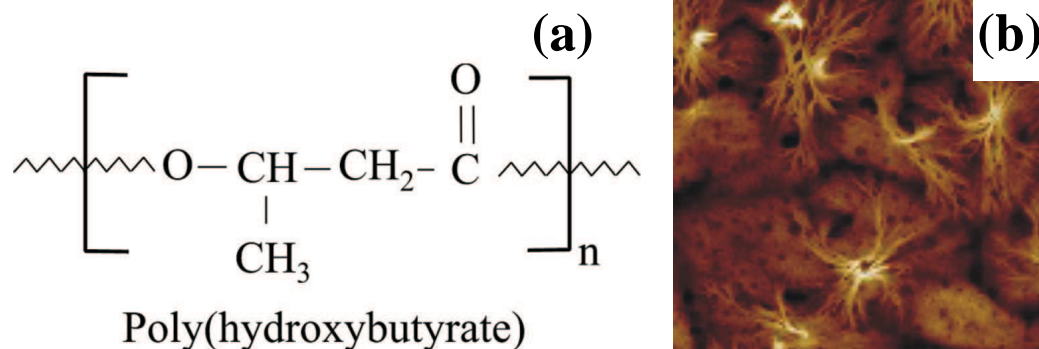
is. A komposztálhatóság és lebonthatóság oka a hidrolitikus hajlam, a főláncban levő észter-csoportok felbonthatósága. A molekulatömeg fokozatosan addig csökken, amíg a polimer-lánc pl. tejsavra vagy ennek oligomerjeire tördelődik, és ezeket a természetes mikrobák el tudják fogyasztani. A lebontás végterméke szén-dioxid és víz [82]. A biológiai lebonthatóság feltétele, hogy mérgező termékek ne keletkezzenek és megfelelő legyen a komposztminőség.



8. ábra. Politejsavból készült termék biológiai degradációját bemutató fotósorozat [83].

A modern gyógyszeripar már régóta hasonló anyagokból gyártja a gyógyszerkapszulákat, amelyekkel még azt is szabályozni lehet, hogy a hatóanyag az emésztőcsatorna mely szakaszában váljon hozzáférhetővé, vagyis hogy hol szívódjon fel a szervezetben [84].

A poli-hidroxi-butirátot (PHB), mint igen érdekes jellemzőkkel rendelkező polimert, még a század elején fedezték fel bizonyos növényekben és baktériumokban a Pasteur Intézet munkatársai. Az 1950-es évek elejére sikerült az anyag szerkezetét is azonosítani, szerkezeti képlete és mikroszkóppal felvett képe a 9. a), b) ábrán látható.

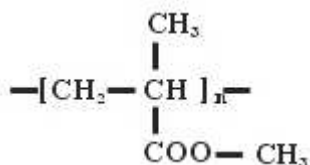


9. ábra: A poli-hidroxi-butirát szerkezete (a) és mikroszkópos képe (b)

A PHB valójában a természetben is előforduló poliészter, amelyet bizonyos mikroorganizmusok állítanak elő energiátárolás céljára. A PHB a jövőben egyes, ma használatos műanyagok helyére léphet, különösen mivel nedvesség hatására belátható időn belül széndioxidra és vízre bomlik el. A tudósok negyven éve fáradoznak azon, hogy a természetet lemásolva nagy mennyiségben készítsenek PHB-t, mivel a mikroorganizmusokból való izolálás egyrészt igen bonyolult, másrészt a glükózkultúrák fenntartása nagyon drága. Kutatók rájöttek, hogy a polimer lánc elvileg két alapegységből is létrehozható: propilén-oxidból és szén-monoxidból. Mindkét vegyület nagy mennyiségben és műszakilag egyszerűen állítható elő. A kutatóknak sikerült olyan katalizátort találniuk, amely lehetővé teszi a két monomer összekapcsolódását polimer láncá – azaz PHB-vé. A fizikai jellemzőket meghatározva kiderült, hogy a PHB kristályos, hidofil, de nem vízoldékony anyag. Magas olvadáspontja (180 °C) széleskörű felhasználást tesz lehetővé. A kutatók úgy vélik, hogyha sikerül a polipropilént a PHB-val helyettesíteni, akkor azokat a csomagolóanyagokat, hálókat, koffereket, sőt lengéscsillapítókat és számos egyéb tárgyat is, amelyet a mindennapokban használunk, az újfajta bioműanyagból lehet majd gyártani [85]. Biokompatibilitásának köszönhetően alkalmazható az orvostudomány területén is. Hőre lágyuló, porózus anyag, jó a vízgőzáteresztő képessége, oxigén áteresztő képessége viszont csökken a réteg vastagságával. Orvosi alkalmazásai szerteágazóak, így pl. szív-műtéteknél a szívburok „foltozására”, koszorúér (pl. sztentek) és szívbillentyű műtéteknél, valamint egyéb műtéti eszközökként, pl. tamponok, sebfontalak formájában használják.

2.6.4. Poli-metil-metakrilát (PMMA)

Ezt a polimert a hétköznapi nyelvhasználatban sokszor „Plexi” néven említik. A metil-metakrilát homo- és kopolimerjei amorf, víztiszta, hőre lágyuló műanyagok. A poli-metil-metakrilát (PMMA) molekulaszervezetét $([C_6H_{10}O_n]_n)$ a 10. ábra mutatja.



10. ábra: A polimetil-metakrilát szerkezete

A PMMA az ún. akrilátok legismertebb tagja, kemény, átlátszó anyag, amely a metil-metakrilát (MMA) polimerizációjával jön létre. Az akrilátok legismertebb tulajdonságai közé tartozik az optikai tisztaság, az időjárás-állóság, a merevség és a keménység. Kereskedelmi méretű felhasználása az 1970-es években kezdődött. Legnagyobb alkalmazási területei a polimerüvegek, hirdetőtáblák, kijelzők, lámpatartozékok, gépjármű-ipari felhasználások és az egészségügyi termékek. Színtelen, átlátszó, törhetetlen, könnyű, üvegszerű, polírozható, hajlítható, a hőtágulása nagy, jó elektromos szigetelő. Kontaktlencsék és szemüveglencsék is készülnek belőle, allergiakeltő hatása minimális; savak, lúgok, aceton oldják; benzinben, terpentiben, ecetsavban és kénsav 10 %-os oldatában nem oldódik. Előnye az üveggel szemben, hogy áttetszőbb, mint az üveg. A PMMA-ból 33cm vastag ablak is készíthető, amely még mindig tökéletesen áttetsző ezért nagyon népszerű hatalmas akváriumok készítésére is. Sűrűsége 1150–1190 kg/m³, majdnem fele, mint az üvegé. A PMMA kiválóan alkalmas csontpótlásra, fogászati protézisek, beültethető kemény szemlencsék készítésére. Újabban azonban egyre inkább terjed a lágy változat alkalmazása a szemészetben is [86].

2.6.5. Keményítő

A keményítő nagy molekulásúlyú növényi szénhidrát. Spirális alakú, el nem ágazó glükózegységekből felépülő amilózból és elágazó láncú amilopektinből áll, amely emésztéséért kis részben a nyál amiláz, nagy részben a pankreas amiláz a felelős. A keményítő fehér, olajos tapintású, szemcsés színtelen és szagtalan por [87].

2.6.6. Na-Alginát

Az alginát, egy magas rosttartalmú hínárkivonat, a Távol-Keleten, Dél-Amerikában, illetve Norvégia és Skócia bizonyos részein fellelhető tengerihínár-fajtából kivont szénhidrát. Íztelen, szagtalan, piszkosfehér színű por, melyről már korábban bebizonyosodott, hogy erősíti a nyálkahártyát, a bélfal természetes védekezőképességét, lelassítja az emésztést és a tápanyagok felvételét. Alkalmazható, mint Ca- és Na-tartalmú algarostokból álló kötszer, erős nedvszívó-képességgel [88]. A sebváladékkal érintkezve egy formáját megtartó gél keletkezik, mely nedves sebkörnyezetet alakít ki és gondoskodik az optimális gyógyulásról. A kötszer nem ragad a sebhez, ezáltal csökken a fájdalomérzet a kötszer cseréjekor és az újonnan kialakult szövet sem sérül. Erősen váladékozó sebeknél alkalmazzák, mint például felfekvés, fertőzött sebek, lábszárfekély, égések és másodlagosan gyógyuló operáció utáni sebek.

2.6.7. Fibronektin

A fibronektin egy fehérje, ami a sejtközötti térhez (extracelluláris mátrix) kapcsolja a sejteket és segít a szöveti struktúra kialakulásában és fenntartásában. A fibronektin többféle formában van jelen a szervezetben. Az egyik, a plazma-fibronektin, ami jól oldódik és a vérben keringve többek között fokozza annak alvadását. A másik formája oldhatatlan, további diszulfid-hidakat tartalmaz és fibronektin fibrillumok formájában lerakódik a mátrixban. A fibronektin valamennyi gerincesben megtalálható nagy glikoprotein, ami két, végükön diszulfid-hidakkal kapcsolódó alegységből áll. A fő rész egy tripeptid szakasz, ami közvetlenül felelős a sejthez kötődésért. Fontos szerepe van a sejtmigrációban, pl. a sebgyógyulás folyamatában, vagy a fejlődés során. Vékony rétegben felhelyezve a sejttenyésztő felületekre, elősegíti a sejtek kitapadását, növekedését és szaporodását [89].

2.6.8. Endothel sejtnövekedést elősegítő anyag

Nagy általánosságban különböző sejtek, legfőképpen hámsejtek tenyésztésére használt kiegészítő. Az erek belső felszínét borító endothel sejtek biztosítják az elhatárolódást és egyben a kapcsolatot is, az ún. barrier funkciót a keringő vér és a

környező sejtek között. Az angiogenezis többlépéses folyamat, amelynek az eredménye új véredények formálása már meglévő erekből. Angiogenezis során a faktorok által stimulált endothel sejtek olyan enzimeket termelnek, amelyek elbontják a bazális membránt, és így az endothel sejtek áthatolnak a membránon és folyamatos osztódásuk eredményeként új kapilláris ereket formálnak. Ez a folyamat elengedhetetlen a tumorok egy minimális méreten túli növekedéséhez [90].

2.6.9. Kollagén

A kollagén egy olyan fehérje, mely „összeragasztja” a sejtek részeit, elősegíti a szövetek létrejöttét és megújítását. A kollagén szervezetünk egyik alapvető fehérjéje, mely megtalálható minden fontos szervünkben, azok rugalmasságáról gondoskodik. Jelen van minden szervben, sejtösszetartó, egyesítő feladata van. A belső hártyák összetett szerkezetét alkotja, pl. a hashártya, tüdőhártya, szívhártya és a szervekét, pl. szív, vese, tüdő, máj, szem, csontok. A bőr kötőszövetének hetven százalékát alkotja, biztosítja bőrünk simaságát és feszségét. Molekulái egymás irányába eltolhatók, vízvisszatartó képességük kiváló, ennek köszönhető a bőrünk rugalmassága [91].

2.7. A minták vizsgálatához használt módszerek

Az egyes mintasorozatokhoz tartozó rétegeket különböző módszerekkel is vizsgáltam. Az adott mintáknál alkalmazott vizsgálati műszereket a kísérletsorozatokat bemutató fejezetek elején foglalom össze.

2.7.1. Atomierő mikroszkóp (Atomic Force Microscope - AFM)

Az atomierő mikroszkóp (AFM) jól alkalmazható biológiai minták vizsgálatára - amilyeneket doktori munkám során is használtam - mivel nem igényel semmilyen az „élettel össze nem egyeztethető” előkészítési eljárást (vákuumot, fagyasztást) szemben a hagyományos elektronmikroszkópos technikákkal. Széles körben alkalmazzák felületanalitikai vizsgálatokra a különböző tudományágak kutatói.

Az (contact-mode) AFM technika lényege, hogy egy kis rugólapkára szerelt, nagyon kis görbületi sugarú tűvel ($< 50 \text{ nm}$) végigpásztázzák a mintát (pl. 500 sorban,

soronként 500 mintavétellel), közben egy érzékeny elektronika segítségével detektáljuk a tű le- és felhajlását, és ennek megfelelően igazítunk a tű minta fölötti magasságán. A tű felhajlásának mértékéből, illetve a kiigazított magasságokból topográfiát lehet készíteni a vizsgált területről. A finom mozgásokat piezo-kristályok segítségével lehet előállítani, a lehajlás detektálását lézerrel és fotodiódákkal végezzük.

Az első AFM berendezések gyémánttűt használtak, később divatosak lettek a különböző fém tűk (Ni, Au), manapság a legtöbb tű anyaga szilikon-nitrid (Si_3N_4). Az elmúlt évek során nemcsak az AFM-ek felépítése, hanem a mérési üzemmódok száma is bővült. A minél nagyobb laterális és horizontális feloldás elérésén kívül hangsúlyt fektettek a minta sérülésének minimalizálására is. Az első és egyben a legrégebbi üzemmód a fent bemutatott kontaktmód, ahol a tű és a felület kontaktusban van. Mivel ekkor a tű kissé benyomódik a felületbe és a pásztázás során megsértheti a minta felszínét, ezért kifejlesztettek egy másik üzemmódot az ún. nem-kontakt (non-contact, NC) módot. Ekkor a minta és a tű nem érintkezik, a tű a minta fölött rezeg. E mód hátránya a kisebb vertikális felbontás; előnye, hogy a minta sérülésmentesen vizsgálható. Később kifejlesztették a két mód tulajdonságait kombináló ún. "tapping" üzemmódot, amit kvázi-nem-kontakt (quasi non-contact, QNC) módnak is neveznek. A módszer előnye a nem-kontakt móddal szemben, hogy a stabilabb és kissé nagyobb az elérhető felbontás.

A leválasztott rétegek érdességi paraméterének megadásához az AFM mérések által meghatározott R_a érdességi paramétert használtam. Kiszámítása a következő egyenlet alapján történik:

$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |f(x)| dx \quad (2)$$

ahol L az érdességi görbe hossza, és $f(x)$ érdességi görbe és a felület középvonalának viszonyát jelző függvény.

2.7.2. Pásztázó elektronmikroszkóp (Scanning Electron Microscope - SEM)

A pásztázó (scanning) elektronmikroszkóp alapját a televízió működési elve képezi, melynek lényege, hogy egy adott mintát vékony elektronsugárral soronként végigpásztázunk, majd egy leképező monitorban szinkron működő pásztázással újra összefüggő képpé állítunk össze. A vizsgálandó tárgy pásztázandó területe igen kicsiny,

de azt nagyszámú finom képpontra bontjuk fel. Mélységelessége nagy, a legnagyobb nagyítása általában 300 000-szeres, de az ennek kihasználásához szükséges felbontást csak különleges mintákon lehet elérni, viszont a nagy pásztázott tartomány durva felületű minták (pl. kőzetek) vizsgálatát is lehetővé teszi. Csak vezetőminták vizsgálhatók, szigetelők esetén a mintát bearanyozzák. A kép kontrasztját elsősorban a vizsgált felület domborzata szabja meg, a kiemelkedő helyek világosabbak, a mélyebb helyek sötétebbek. A pásztázó elektronmikroszkóp elsősorban a preparátum felszínéről ad információt, szemben a transzmissziós elektronmikroszkóppal, ahol „belelátunk” a minta belső struktúrájába. A felszínről nyert kép rendkívül plasztikus és térben mutatja be az adott struktúrát, bonyolult térbeli alakzatok, összefüggések egyetlen képből közvetlenül kideríthetők.

2.7.3. Profilométer

A profilométer a felületek vizsgálatára alkalmas berendezés, az érdesség, vastagság megállapítására nano- és mikrométeres pontossággal. Egy gyémánttű állandó sebességgel halad a minták felületén, hegyének görbületi sugara 10 nm-től 12,5 mikrométer lehet és derékszögben hajlik a tűtartóhoz képest. A tű horizontális és vertikális irányú elmozdulása egy analóg jelet generál, ami a számítógépes kiértékelés után a monitoron jeleníthető meg.

2.7.4. Fourier-transzformációs infravörös (FTIR) spektroszkópia.

Molekulák összetételének, kötésszerkezetének meghatározására alkalmazott korszerű, roncsolásmentes analitikai technika, mellyel nagy spektrális felbontással rögzíthetjük a vizsgálni kívánt minta transzmisszióját és abszorpcióját az infravörös tartományban. A minták infravörös abszorpciója alapján a mintát alkotó molekula egységei beazonosíthatók, így az anyagok az összetételük alapján összehasonlíthatókká válnak. A mérést általában abszorpciós módon végezzük, azaz egy külső infravörös sugárforrás fényét vezetjük át a mintán, majd egy detektor segítségével mérjük a fényintenzitást. Az infravörös spektroszkópia nagy előnye, hogy gáz, folyadék (oldat) és szilárd minták egyformán roncsolásmentesen vizsgálhatók. A réteg kötésszerkezete függ a hordozó hőmérsékletétől, amely az épülő réteg hőmérsékletét is meghatározza.

Alacsony hőmérsékleten többnyire amorf rétegek hozhatók létre. Ennek hátterében az áll, hogy rétegépülés közben a réteghez kötődő részecskék térbeli helyzetüket véletlenszerűen veszik fel, nem a kristályos rendnek megfelelően helyezkednek el. Ez akkor is megfigyelhető, ha a réteg hőmérséklete a nagy energiájú részecskék becsapódásakor megnövekszik, mert a hőmérsékletnövekedés csak olyan rövid ideig tart, ami nem elegendő a kristályos rend megjelenésére. Magas hőmérsékleten, amikor a részecskéknek biztosítva van a megfelelő mobilitás, a rétegek kristályos szerkezetűek lesznek. A szilárd mintákat KBr, CsI vagy polietilén porban homogenizálva préseléssel pasztillázzák. A spektroszkópai vizsgálatokhoz olyan tablettákat préseltem, amelyben 140 mg KBr-ot és a vizsgálni kívánt célszorból 10 mg-ot kevertem össze. Az így készített tabletta infravörös spektrumát használtam a későbbi vékonyréteg mintákhoz referencia színeképként.

2.7.5. Ellipszometria

Az ellipszometria tömbi anyagok, illetve rétegrendszerek optikai együtthatóinak, (n , k , ϵ_1 , ϵ_2), illetve rétegvastagságainak (d) meghatározására alkalmas módszer. Az ellipszometriás felületvizsgálat nagy érzékenységgű, alkalmas nagyon vékony (néhány tízed nm vastag) rétegek vastagságának mérésére, továbbá a film törésmutatója is nagy pontossággal határozható meg. Nem igényel különösen gondos minta előkészítést, és a módszer roncsolásmentes. A módszer alapja, hogy ha fény reflektálódik valamely minta felületről, akkor a fény polarizációs állapota megváltozik, és ez a változás a reflektáló felületre, a vizsgált minta szerkezetére és anyagára jellemző. Az ellipszometria a polarizációs állapotban bekövetkező változásokat detektálja és értelmezi. A készülékkel 245-től 1000 nm-ig vehető fel az ellipszometriai spektrum 470 hullámhosszon. A CCD egységen a jel rögzítése minden hullámhosszon egyszerre történik, így a mérés rendkívül gyors. Az adatok kiértékelése, a modellek felépítése számítógéppel, egy a készülékhez tartozó szoftverrel történik.

3. CÉLKITŰZÉSEK

Az utóbbi néhány évtizedben a lézerek biológiai és orvosi célú alkalmazási lehetőségeinek vizsgálata vált az egyik legdinamikusabban fejlődő kutatási területté. Munkám során az impulzuslézeres vékonyréteg leválasztási mechanizmust, azaz PLD (Pulsed Laser Deposition) technikát alkalmazva kívánok biológiai anyagokból és polimerekből vékonyrétegeket leválasztani különböző hordozók felületére. Célom a különböző leválasztási paraméterek (energiasűrűség, impulzusszám, céltárgy-hordozó távolsága, stb.) anyagspecifikus optimalizálása. A különböző paraméterekkel előállított és megfelelő tulajdonságokkal rendelkező rétegek leválasztásának érdekében morfológiai és kémiai vizsgálatokat is végrehajtok. Kísérleteimmel be szeretném mutatni, hogy a nano- és femtoszekundumos PLD módszere alkalmas összetett biológiai, biokompatibilis vékonyrétegek készítésére is, melyek potenciálisan alkalmazhatók lehetnek az orvostudományban.

- Ezért célom fogporból készült tablettákból sztöchiometrikus fogvékonyrétegeket leválasztani fogászok által implantátumként használt titán hordozóra, így segítve elő a fogászati implantátumok szervezetbe való beépülését. Meg kívánom határozni az optimális leválasztási körülményeket a rétegek morfológiai, spektroszkópiai vizsgálatával és a réteg-hordozó közötti tapadás mérésével.
- Pepszin porból biológiai aktivitását is megtartó vékonyréteg előállítása a célom, valamint meghatározni azokat a leválasztási paramétereket, amelyek olyan réteg leválasztását teszik lehetővé, amely nemcsak a céltárggyal megegyező sztöchiometriájú, hanem még a biológiai aktivitását is megtartja. Ennek ellenőrzésére a spektroszkópiai vizsgálatok mellett az enzim működési feltételeit biztosító demonstrációs kísérletek összeállítását is tervezzük.
- A lehetséges orvosi alkalmazásokat szem előtt tartva következő célom a biológiailag lebomló poli-hidroxi-butirát réteg készítése. A rétegek leválasztásánál itt az eredeti polimerrel azonos sztöchiometriájú réteget szándékozok létrehozni, valamint egy egybefüggő, a teljes szubsztrát felületét befedő réteg előállítása a tervem
- A femtoszekundumos lézerimpulzusokkal végzett kísérletekben olyan struktúrált vékonyrétegek leválasztása a cél, melyek segítségével irányított sejtmegtapadás,

sejtnövekedés érhető el. A sejtmegtapadást elősegítő anyagok maszkkal történő leválasztása lehetővé teszi különböző sejtek irányított növekedését. Ehhez Na-alginátot, fibronektint, endothel sejtnövekedést elősegítő anyagot és kollagént tartalmazó vékonyrétegek leválasztását tervezem. Céljaim között szerepel a rétegek sejtmegtapadási hatékonyságának demonstrálása különböző sejttypusokkal. A kísérleteimben alkalmazott anyagok strukturált vékonyréteg leválasztásának az a célja, hogy megmutassam az irányított sejtnövesztés lehetőségét.

- Céljaim között szerepel még annak megállapítása, hogy különböző molekulatömegű poli-metil-metakrilát (PMMA) polimerek UV excimer lézeres ablációjakor milyen tulajdonságú részecskék alakulnak ki. Ehhez polimer nanorészecskék leválasztását, méretük és eloszlásuk vizsgálatát tervezem.

4. KÍSÉRLETI TECHNIKÁK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

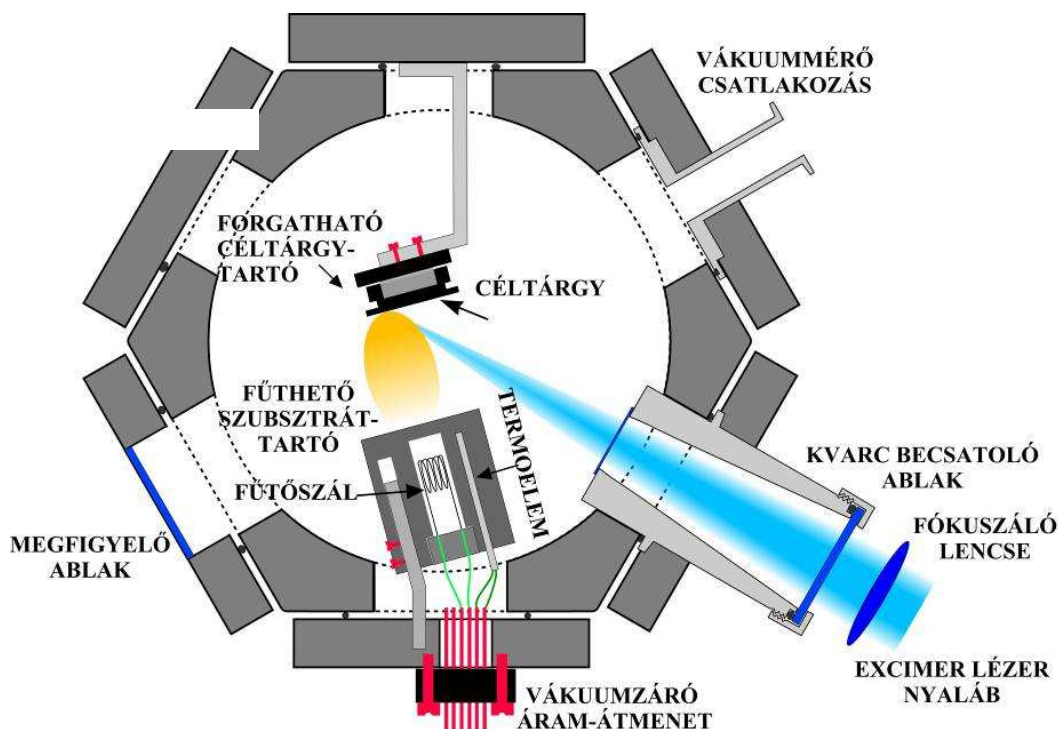
4.1. Impulzuslézeres vékonyréteg leválasztás kísérleti elrendezése

A vékonyréteg építésben alkalmazott elrendezés két fő részből áll: 1. a szükséges kamranyomást előállító vákuumrendszerből (különböző vákuumpumpák, csatlakozók, csapok, szelepek, nyomásmérő) és a PLD-kamrából. Ennek főbb részei: kvarc becsatoló ablak, megfigyelő ablak, motorral forgatható céltárgytartó és szubsztráttartó. Az általam alkalmazott kísérleti elrendezés vázlatos rajza a 11. ábrán látható. A pontos kísérleti paramétereket mindig az adott mintasort bemutató fejezetek bevezetőjében mutatom be.

A vékonyrétegek építése során különböző hullámhosszúságú excimer lézereket ($\lambda=193, 248, 308$ nm) használtam a minták (fog, pepszin, PHB tableta, fehérjék, PMMA) besugárzására. A kísérletekben használt különböző lézerek típusai: 5.1., 5.2., és 5.3. fejezetben Lambda Physik EMG 201 (193, 248 nm), az 5.4. fejezetben fs-os (248 nm, 500 fs-os impulzushossz), az 5.5. fejezetben Lambda Physik LPX 210 (193, 248 nm, 30 ns-os impulzushossz) és Lambda Physik LPX 315 (308 nm, 25 ns-os impulzushossz).

Az aktuálisan alkalmazott lézer nyalábját egy kvarc ablakon keresztül vezettem be a vákuumkamrába és egy $f=20$ cm-es kvarclencsével fókuszáltam a mintára. Egyidőben mértem a rá jutó és a kicsatolt lézernyaláb energiáját. A nyaláb útjába 45° -os szögben egy kvarclemezt tettem, amellyel kicsatoltam annak egy részét egy energiamérőre. A lézernyaláb energiájának hitelesítését egy Tetronix e-Scope segítségével végeztem. A kicsatolt lézerimpulzusok egy detektorra érkeztek, majd abból a Laser Probe energiamérőbe kerültek. Ezt az adatot a mérések során referenciaként használtam fel. A referencia energiamérőt úgy hitelesítettem, hogy egyidejűleg egy másik hitelesített energiamérővel mértem a mintára jutó energiát. A kamrában lévő lézernyaláb energiaértékét a nyitott kamra mögé helyezett detektorral tudtam mérni. Ebből, illetve a lézernyaláb által megvilágított felület nagyságából kiszámítottam a mintára eső aktuális energiasűrűség értékét. A lézernyaláb energiáját egy dielektrikum vékonyréteg attenuátorral szabályoztam. A különböző kísérletekben a vákuumkamrában lévő nyomás értékeit egy rotációs és egy turbomolekuláris szivattyúval állítottam elő. A

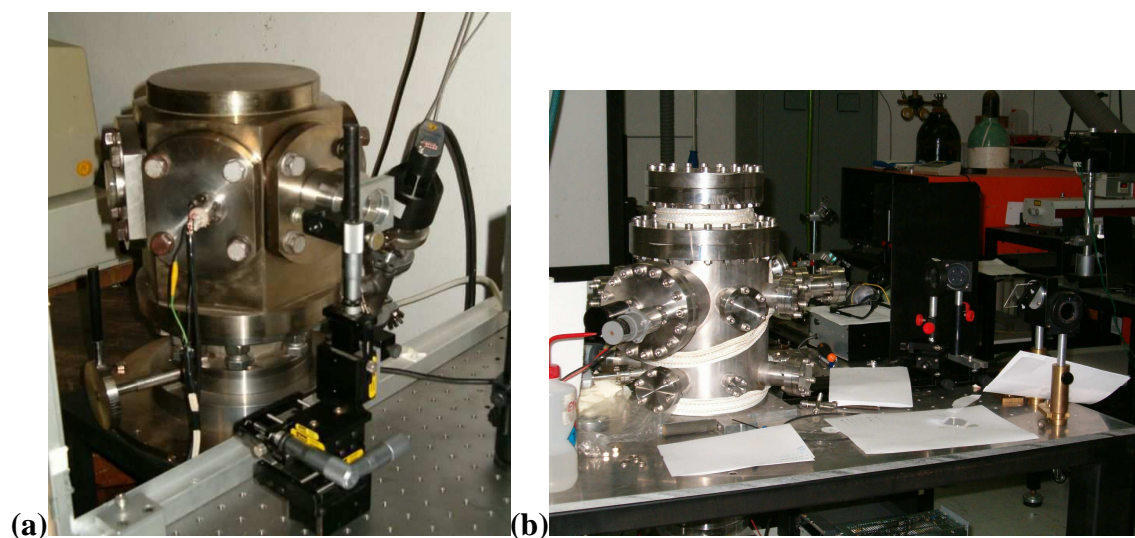
kamra és a szivattyúk elkülönítését egy pillangószelep biztosította. A nyomás értékének mérésére az alacsony nyomások esetén egy hidegkatódos vákuummérőt, míg a nagyobb nyomástartományokban egy Pirani-féle vákuummérőt használtam.



11. ábra: A vékonyrétegek leválasztásához alkalmazott vákuumkamra vázlatos felépítése.

A lefókuszált lézer nyalábot a PLD kamra becsatoló ablakán keresztül irányítottam a céltárgyra, amit egy kívülről vezérelhető elektromos kismotor segítségével forgattam annak érdekében, hogy a céltárgyat mindig más helyen tudjam ablálni, elkerülve így az ablációs anyagfelhő mozgását jelentősen befolyásoló kráterszerű struktúrák kialakulását és a minta átlukadását. A céltárgyra eső lézernyaláb helyzetét változtatni tudtam a fókuszáló lencse céltárggyal párhuzamos eltolásával, így szinte a mintáink teljes felületét ki tudtam használni. A megfigyelő ablakon keresztül nyomon követhettem az ablált céltárgy állapotát és a lefókuszált lézernyaláb pozícióját. A céltárggyal szemben, vele párhuzamosan található a szubsztráttartó. Ide helyeztem a hordozót, mely a kísérleti céloknak megfelelően: KBr tabletta, üveglap, szilícium lap vagy titán korong volt. A hordozót úgy célszerű elhelyezni, hogy a középpontja az eltávozó anyagfelhő szimmetriatengelyén legyen a levált anyagrészecskék minél

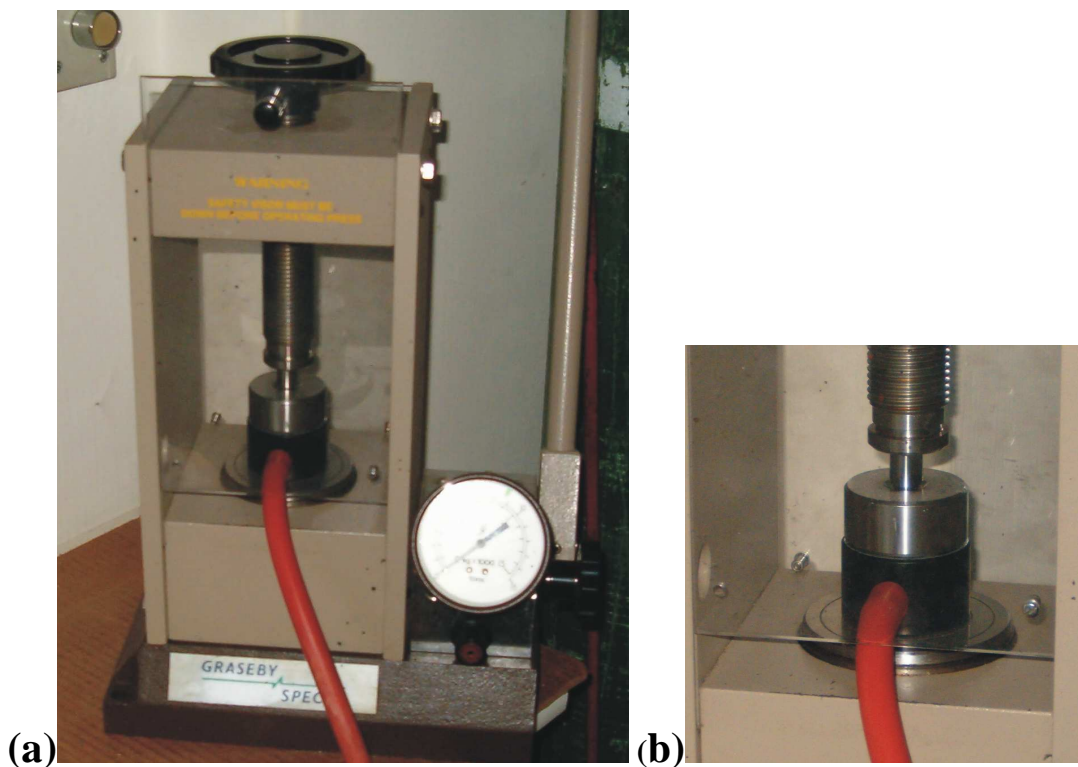
hatékonyabb összegyűjtése érdekében. A szubsztráttartó fűthető is volt, amelyet 100 W teljesítményű, 24 V-os halogén izzó biztosított. A hőmérsékletet egy digitális On-Off controllerrel szabályoztam és egy K-típusú termoelemmel mértem, mely a szubsztráttartóban volt elhelyezve néhány milliméterrel a szubsztrát alatt. A 12. ábra a) és b) képein a vékonyréteg leválasztáshoz használt kétfajta vákuumkamra látható. A hatszögletű vákuumkarát az SZTE, Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék Ablációs kutatócsoport laborjában, a hengeres PLD kamrát a krétai FORTH kutatóintézet laborjában használtam PLD kísérleteimben.



12. ábra: Kísérleteimben Szegeden (a) és Krétán (b) alkalmazott PLD vákuum-kamrák.

4.2. Céltárgyak előkészítése

Kísérleteimhez különböző paraméterekkel rendelkező tablettákat készítettem a céltanyagokból. A tabletták átmérője azonos, 1,3 cm volt, amit a tablettázó készlet méretei határoztak meg. A préselés előtt egy analitikai mérleg segítségével a szükséges mennyiségű porokat mértem ki. A tablettákat egy Graseby Specac 15 011-es hidraulikus présgéppel készítettem, amely a 13. a) ábrán látható.



13. ábra: A hidraulikus présgép (a) és a tablettázó készlet (b).

A tablettázásra egy krómacél tablettázó készletet (13. b) ábra) használtam, melynek részei: egy acélhenger és két kis henger alakú acélbetét. A megfelelően megtisztított henger alakú nyílásba először az egyik acélbetétet helyeztem, majd beleszórtam a tablettázni kívánt port. Egy hosszabb acélrúddal elegyengettem a készülékben lévő port, hogy préselés közben egyenletes vastagságú tablettát kapjak. A porra ráhelyeztem a másik acélbetétet, majd a tablettakészítő készülékbe ezután egy kb. 10 cm hosszúságú acélrudat helyeztem. Megfelelő nyomás alatt sikerült a porokból tablettákat készíteni, amelyről készített kép a 14. ábrán látható.



14. ábra: Hidraulikus préssel készített pepszin tablettá.

A fog, pepszin, PHB, stb. porokból 300 mg-os tablettákat, míg a kálium-bromid (KBr) porból 150 mg-os tablettákat préseltem rendre 245 MPa és 440 MPa nyomáson. Utóbbiak a referencia FTIR spektrumok felvételéhez kellettek, a rétegek kötésszerkezetének vizsgálatához.

4.3. Vékonyrétegek szerkezeti és morfológiai vizsgálatának módszerei

A leválasztott rétegek tulajdonságainak, sztöchiometriájának és morfológiájának vizsgálata, optikai mikroszkóppal, profilométerrel, atomierő mikroszkóppal (AFM), pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM) történt. Az elkészített vékonyréteg többségénél infravörös spektroszkópiával vizsgáltam a rétegek anyagának kötésszerkezetét. A leválasztott vékonyrétegek biológiai aktivitásának vizsgálatát orvos kollégák segítségével végeztem el.

A minták morfológiai vizsgálatára TopoMetrix TMX 2000 típusú AFM készüléket alkalmaztam. A polimer minták morfológiai vizsgálatát a Kréti Egyetem Kémia tanszékén található Philips LX30 típusú pásztázó elektron mikroszkóppal végeztük. Az optikai mikroszkópos vizsgálatokat NIKON optikai mikroszkóppal végeztem, a képeket a mikroszkóphoz rögzített digitális fényképezőgéppel készítettem. A biológiai minták vizsgálatához Olympus BX50 típusú mikroszkópot használtunk. Az infravörös spektroszkópiai mérések egy BIORAD FTS-65 IR (FTIR) Fourier-transzformációs spektroszkóppal történtek. A spektrumokat a 400-4000 $1/\text{cm}$ tartományban, és 2 cm^{-1} felbontással rögzítettem. Az ellipszometriai vizsgálatokhoz egy Woollam M2000-F típusú, forgó kompenzátoros spektroszkópiai ellipszométert használtuk. A mért értékeket parametrikus Cauchy-modell szerint illesztettük. Egyes minták rétegvastagságának méréséhez Dektak 3030 típusú profilométert alkalmaztam.

5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK

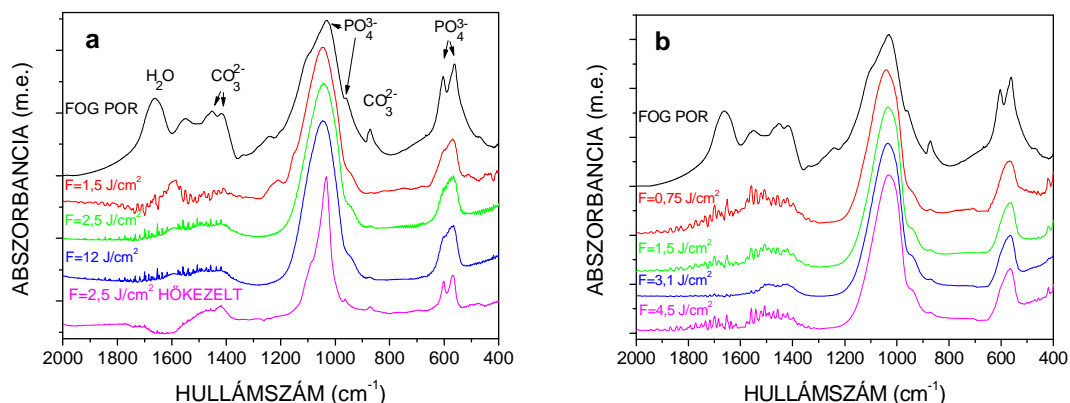
A dolgozatomban bemutatott kísérletek során a vizsgált minták előállításához az impulzuslézeres leválasztás módszerét alkalmaztam.

5.1. Fog vékonyréteg előállítása impulzuslézeres vékonyréteg építéssel

A munkám első részében az volt a célom, hogy javítsam a fogimplantátumok csontintegrációját. Ezt a célt, a titán felületére felvitt fog vékonyréteggel lehetne megoldani. Elkerülve az esetleg fellépő, idegen testből származó immunreakciókat, az implantátum felületének saját fogszövet anyagával történő bevonása járható útnak látszik. Ezért az alábbiakban azt tűztem ki célul, hogy megvizsgáljam, lehetséges-e szervezetbarát bevonatot, „fog-vékonyréteg”-et előállítani az emberi fog anyagából különböző, pl. titán hordozókra.

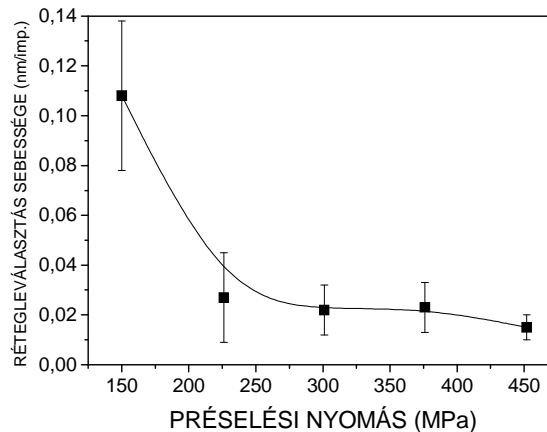
A kísérletsorozatban emberi fogakat használtam, amiket a Fogászati és Szájsebészeti Klinikáról kaptam. A foggyökerek (dentin és cement) achát mozsárban való őrlésével kaptam átlagosan 3 μm -es szemcseméretű fogport, melyekből préselt tablettákat használtam céltárgyként. A tablettákat 150 és 450 MPa közötti nyomásokon préseltem. ArF ($\lambda=193\text{ nm}$, FWHM=20 ns) és KrF ($\lambda=248\text{ nm}$, FWHM=23 ns) excimer lézereket alkalmaztam a céltárgyak ablálásához. A lézernyalábot a céltárgyon megközelítőleg 1,5 mm^2 méretű területre fókuszáltam, az energiasűrűséget ArF lézer esetén 0,75 és 4,5 J/cm^2 között, KrF lézer esetén 0,75 és 12 J/cm^2 között változtattam, a lézer impulzusok száma 2000-20000 között volt. A céltárgy és a szubsztrát távolsága ~3 cm, a vákuumkamrában a nyomás 3×10^{-3} Pa volt. Az FTIR spektroszkópiai vizsgálatokhoz szükséges minták esetén KBr hordozót, a morfológiai vizsgálatokhoz üveget és titánt alkalmaztam, melyeknek hőmérsékletét a rétegnövesztés ideje alatt 250 °C-on tartottam. A vékonyrétegek egy részét utólag 2 órán keresztül 550 °C-on hőkezelttem. A leválasztott „fog vékonyrétegek” kémiai összetételét, kötésszerkezetét FTIR spektrométerrel vizsgáltam a 400-4000 cm^{-1} tartományon, a morfológiai vizsgálatokhoz atomierő mikroszkópot alkalmaztam. A vékonyrétegek hordozóhoz való tapadását ragasztószalagos teszttel és karcollással ellenőriztem.

Az alkalmazási lehetőségek szempontjából nagyon fontos a leválasztott vékonyrétegek sztöchiometriája, ezért először a rétegek kötősszerkezetét vizsgáltam infravörös spektroszkópiával az alkalmazott lézer hullámhosszának és energiasűrűségének függvényében. A 15. ábrán a fogpor referencia spektruma, valamint az ArF (a) és KrF (b) lézerekkel különböző energiasűrűségek mellett készített vékonyrétegek infravörös spektrumai láthatók. A fogpor spektrumában erős abszorpciós csúcsok figyelhetők meg 1031 , 958 , 602 és 561 cm^{-1} , valamint 1451 , 1420 és 873 cm^{-1} hullámszámoknál, melyek a PO_4^{3-} és CO_3^{2-} ionokhoz rendelhetőek [92]. A leválasztott rétegek spektrumában az 1420 és 873 cm^{-1} -nél lévő abszorpciós vonalak intenzitása kisebb, ami nagymértékben lecsökkent karbonát-ion tartalmat jelez. KrF lézer alkalmazása esetén $1,5$ és $0,75\text{ J/cm}^2$ energiasűrűségek esetén a 873 cm^{-1} -es csúcs (CO_3^{2-}) teljesen hiányzott, nagyobb energiasűrűségeknél viszont már megfigyelhető volt. Az ArF lézert alkalmazva már $1,5\text{ J/cm}^2$ -nél is megfigyelhető volt ez az abszorpciós csúcs. A fogpor spektrumában 3575 cm^{-1} -nél az OH^- gyöknek megfelelő abszorpciós csúcs látható, míg ugyanez a vonal a vékonyrétegek esetében gyenge volt, intenzitása az energiasűrűség növelésével csökkent. A fogpor spektrumában az 1650 cm^{-1} -nél látható csúcs az eredeti fog anyagának víztartalmára utal, míg a vékonyrétegek spektrumában ez nem volt kimutatható, azt mutatja, hogy a rétegek jóval kevesebb vizet tartalmaznak, mint a céltárgy. Normál atmoszférán 2 órán keresztül történő $550\text{ }^\circ\text{C}$ -os hőkezelés hatására a vékonyrétegek IR spektrumain a karbonát csúcsok kihangsúlyozottabbakká váltak, valószínűleg a levegő széndioxidjával való kölcsönhatás következtében. A spektrumok legfontosabb mondanivalója, miszerint a vékonyréteg növesztés során az OH^- , víz és karbonáttartalom lecsökken, azt mutatja, hogy lézersugárzás okozta hőmérsékletnövekedés hatására H_2O és CO_2 szabadul fel a fog anyagából. A kémiai összetétel megőrzéséhez a vízgőzben történő PLD egy járható út lehet, akárcsak a szintetikus CHA (corallin-hydroxyapatit = korallból származó hidroxiapatit) esetén [93]. Ennek vizsgálatára és a kísérletek eredményeinek összehasonlítására további kísérletek összeállítását tervezzük.



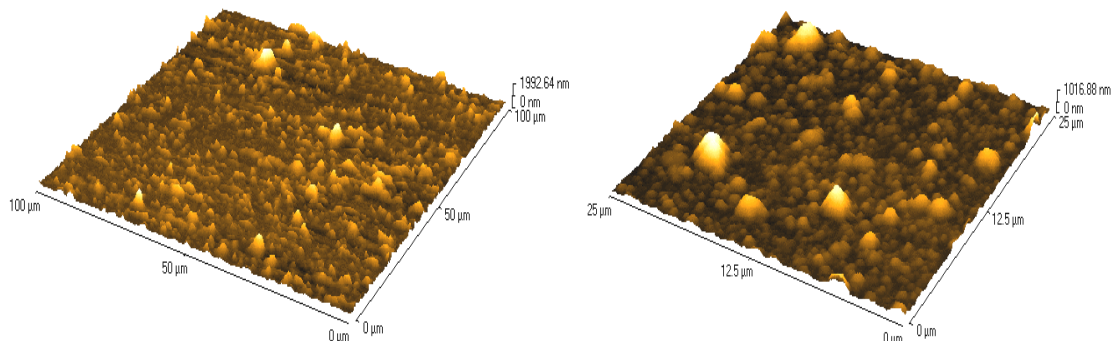
15. ábra: ArF (a) és KrF (b) lézerekkel, különböző energiasűrűségekkel készített vékonyrétegek FTIR spektrumai, valamint a fogpor spektruma. Az (a) grafikon alsó spektruma egy 550 °C-on utólag hőkezelt réteghöz tartozik.

A kötőanyagvizsgálatot követően megvizsgáltam a rétegek felszínét. Ehhez az ArF lézerrel 1,5 J/cm² energiasűrűségnél készített vékonyrétegeket AFM-mel vizsgáltam. A rétegek vastagságának meghatározásához az ellipszis alakú vastagságeloszlás hossz tengelyén a középponttól 8 mm-re megkarcoltam a réteget és az így keletkezett lépcső mentén mértem a réteg vastagságát. Ebből meghatározható az impulzusokra vonatkozó leválasztási sebesség (rétegvastagság/impulzusszám). Az így kapott leválasztási sebesség értékek a préselési nyomás függvényében a 16. ábrán láthatók. Egy impulzusra jutó réteg vastagsága a tabletta keménységével egyre csökken. A céltárgyak préselésekor alkalmazott nyomást 150 MPa-ról 450 MPa-ra emelve, a vékonyréteg növekedési sebessége mintegy hatod részére csökkent. Ennek két oka lehet: egyrészt a nagyobb préselési nyomás következtében a porszemcsék jobban tapadnak egymáshoz és nehezebben szakadnak ki a céltárgyból; másrészt pedig a jobban összetapadó részecskék jobb hővezető képessége a besugárzás alatt kisebb hőterhelést eredményez.



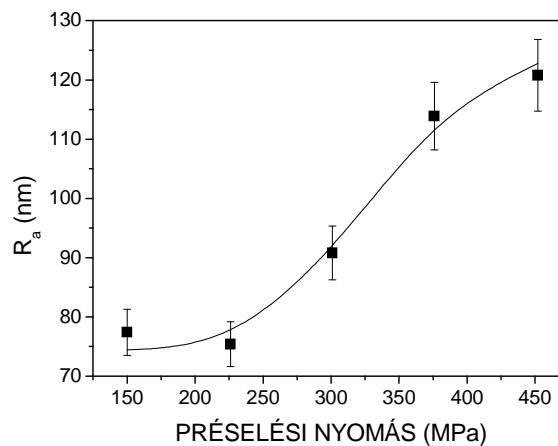
16. ábra A fog vékonyréteg növekedési sebessége a céltárgy préselésekor alkalmazott nyomás függvényében.

A 17. ábrán a leválasztott fog vékonyréteg AFM-mel készített képe látható. A felületi struktúrák oldalirányú méretét a céltárgyat alkotó szemcsék átlagos mérete határozza meg, ami a képek alapján kisebb, mint $3\ \mu\text{m}$. Ez azt mutatja, hogy az ablációs anyagfelhő nagyszámú, a céltárgyból származó és a lézersugárzás hatására tovább aprózódott szemcsét tartalmaz, a rétegépülés során ezek rakódnak le a szubsztrátra.



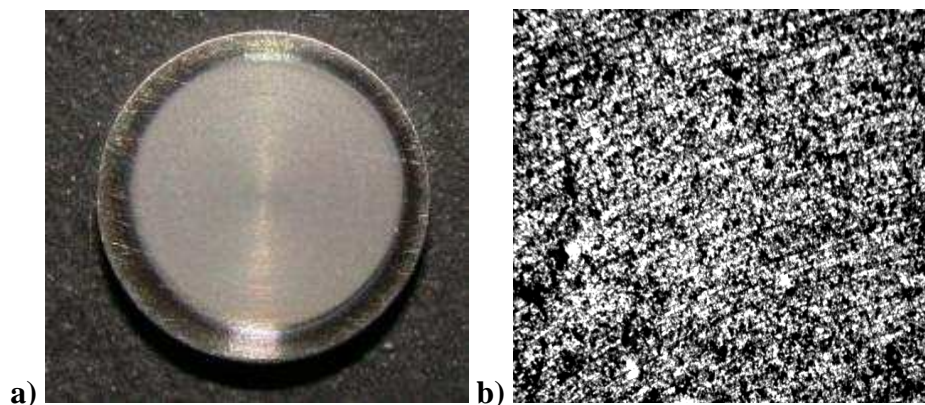
17. ábra: Fog vékonyréteg atomierő mikroszkópos képe. Az energiasűrűség $1,5\ \text{J}/\text{cm}^2$, a préselési nyomás 380 MPa az impulzusszám pedig 13000 volt.

A felület érdességének jellemzésére, ennek számszerűsítésére az R_a érdességi paramétert használtam, amelyet a 18. ábrán a nyomás függvényében ábrázoltam. Látható, hogy a rétegek érdessége növekszik a céltárgyként használt tabletták préselési nyomásának emelésével, annak ellenére ahogy az a 16. ábrán látható, a rétegek átlagos vastagsága 200 MPa felett alig változik. Ez alapján, azt mondhatjuk, hogy nagyobb préselési nyomás esetén a rétegépítő klaszterek nagyobbak, de összevetve a növekedési sebességre kapott eredményekkel, kisebb számban szakadnak ki a céltárgyból.



18. ábra: 300 nm vastag fog vékonyréteg érdességi paraméterének függése a céltárgy préselésekor alkalmazott nyomástól.

Fog vékonyréteg titán hordozóra való leválasztásához, 376 MPa nyomáson készítettem el a céltárgynak szánt fogtablettákat. A titán korong hőmérsékletét 250 °C-ra állítottam be, az alkalmazott impulzusok száma 25000 volt. A 19. a) és b) ábrán bemutatott képeken látható, hogy nem kaptam sima, tömör réteget, ez azonban több szempontból is hasznos lehet. Megnőtt a felszín, vagyis nagyobb felületen érintkezhet a réteg a beépített implantátumnál a szövetekkel megnövelheti az implantátum tapadását. A felszín tehát érdekesebb lett, mikrométeres tartományban a pórusok keletkeztek, amelyekbe a csontsejtek könnyebben belenőhetnek.



19. ábra: 10 mm átmérőjű titán korongra leválasztott vékonyréteg fényképe (a) és optikai mikroszkópos képe (b).

A fog vékonyréteg gyakorlati alkalmazásának szempontjából fontos tényező, hogy mennyire tapad a titán hordozóhoz. Nyilvánvaló, hogy az a vékonyréteg, amelyik könnyen leválik, lekopik, vagy lepattogzik kis erők vagy dörzsölés, súrlódás hatására, alkalmatlan a célkitűzésben említett feladat ellátására. Emiatt titán hordozóra növesztett vékonyrétegeket alkotó szemcsék tapadását ragasztószalagos teszttel (Scotch-tape teszt) vizsgáltam. A minták gyors és egyszerű vizsgálata során a rétegre ragasztószalagot ragasztottam, erősen rásimítottam, és a későbbiekben pedig eltávolítottam azt.

Bár az első ragasztószalag eltávolításakor a felületről leváltak a gyengén kötött szemcsék, újabb vizsgálat során a leváló anyagmennyiség már elhanyagolható volt. Ez azt mutatja, hogy a szubsztrát-vékonyréteg határfelülethez közeledve a réteg tömörebbé és ellenállóbbá válik. A hőkezelés hatására a rétegek a mechanikai hatásokkal szemben ellenállóbbá váltak: a ragasztószalag már első próbálkozásra sem távolított el számottevő anyagmennyiséget és a réteg nehezebben volt karcolható a hőkezelés előtti mintákhoz képest [T1].

Összegzés:

Biológiai szempontból a legtermészetesebb fog-implantátum bevonata maga a fog anyaga lenne, ezért bebizonyítottam, hogy ilyen réteg PLD módszerrel leválasztható titán hordozóra. A spektroszkópiai vizsgálat kimutatta, hogy vékonyréteg kémiai összetétele jó közelítéssel megegyezik az eredeti foganyagével. Megvizsgáltam a rétegek érdekességét, és a rétegek vastagságának mérésekor megállapítottam, hogy az egy impulzusra jutó réteg vastagsága a tabletták préselési nyomásának növelésével egyre csökken. Vagyis a puhább tablettából a kisebb és kevésbé összetapadt részek könnyebben kiszakíthatóak, mint a nagyobb nyomással készített tablettákból a nagyobb és jobban összeragadt darabok, ezzel magyarázható, hogy a leválasztási sebesség csökken a fog tabletták keménységének növekedésével.

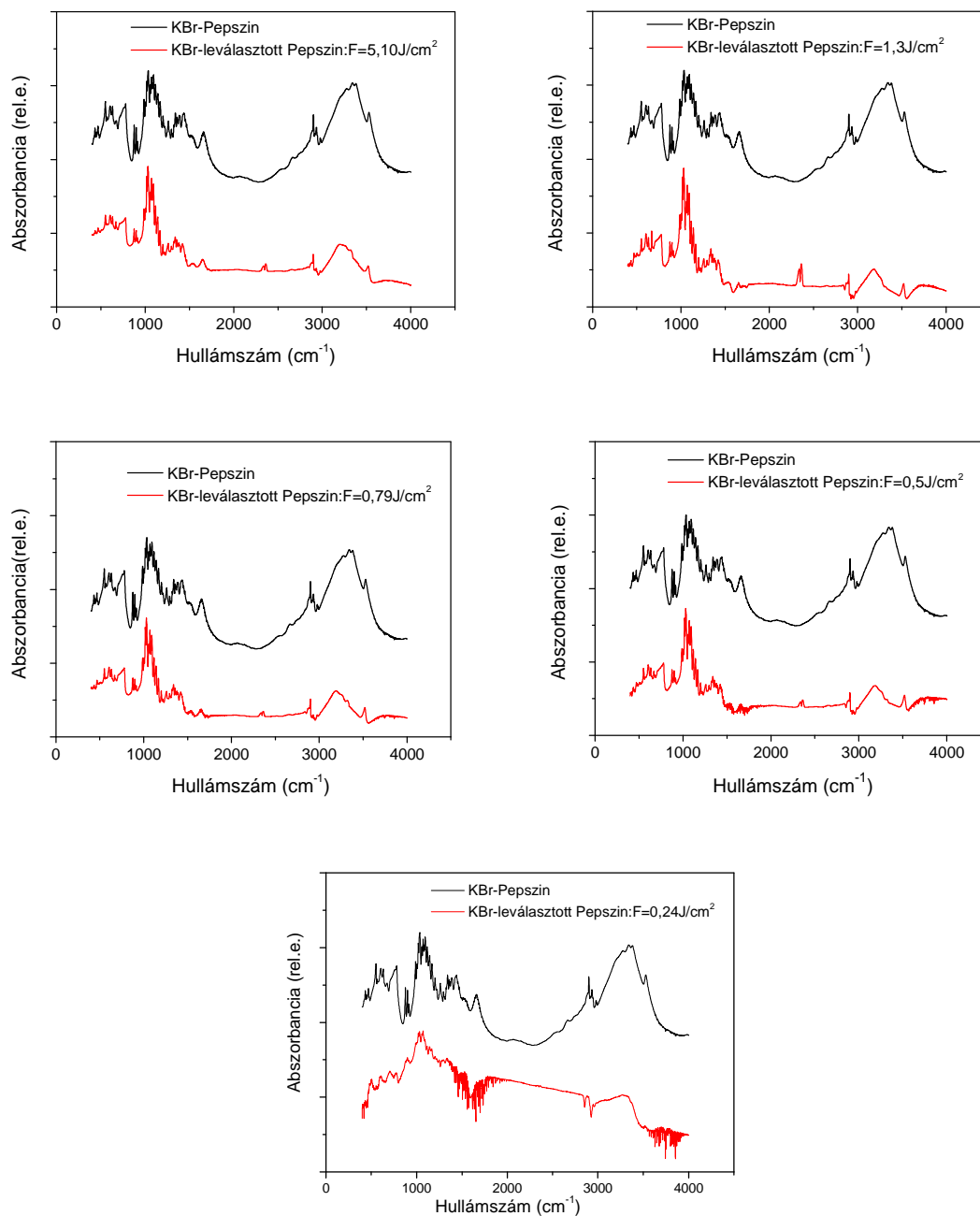
5.2. A pepszin impulzuslézeres vékonyréteg építése

5.2.1. Pepszin vékonyréteg leválasztása

Doktori munkám második feladata volt megvizsgálni, hogy az emberi szervezetben is jelenlévő egyik enzimből, a pepszinből lehetséges-e vékonyréteget leválasztani PLD technikával.

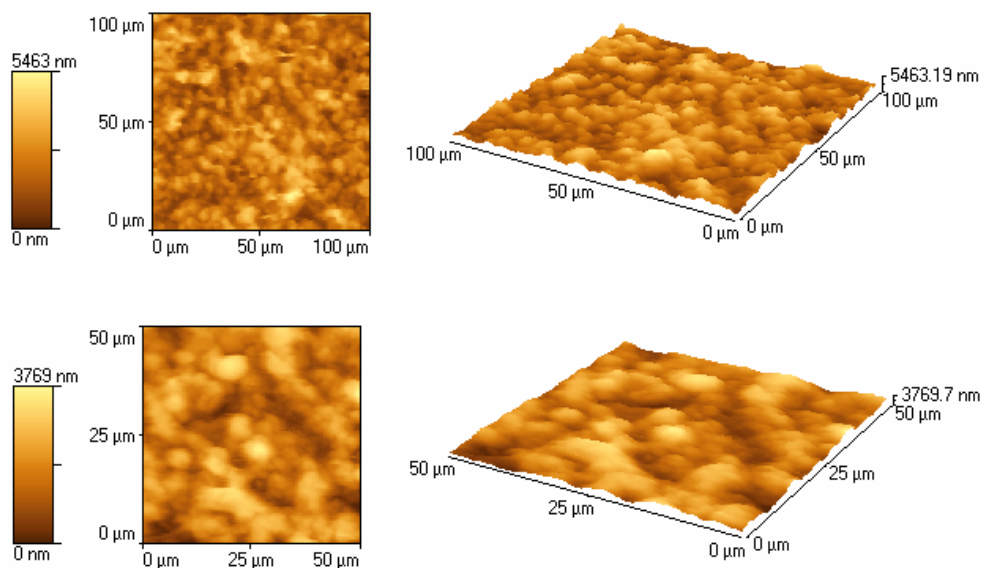
A kísérletet megelőzően a pepszin porból (FLUKA Chemika) tablettákat préseltem. Ezeket helyeztem a PLD-kamra céltárgytartójába. A vékonyrétegek előállításához különböző energiasűrűségeket használtam, hogy meghatározzam azt az értéket, amelynél a legjobb tulajdonságokkal rendelkező réteget lehet előállítani. Öt energiasűrűség (F) értéket alkalmaztam: 5,1; 1,3; 0,79; 0,5; 0,24 J/cm²-t. A lézernyaláb foltmérete a céltárgyon megközelítőleg 1,67 mm² méretű, a céltárgy és a hordozó közti távolság ~4 cm volt. A pepszin KBr-ra való leválasztásához 3300 impulzust lőttem. A vákuumkamrában átlagosan 4×10^{-5} Pa volt a nyomás értéke.

Először az elkészített rétegek kötősszerkezetét vizsgáltam. Ehhez pepszin vékonyréteget először kálium-bromid tablettára választottam le. Az így elkészített vékonyrétegek színeképét infravörös spektrométerrel tanulmányoztam. Az infravörös színeképek összehasonlításához egy 10 mg pepszin tartalmú referencia KBr tablettát is préseltem. Az így készített tabletta infravörös spektrumát használtam referencia színeképként. A 20. ábrán a kísérletekben alkalmazott öt különböző energiasűrűséggel készült réteg infravörös spektrumai láthatók. A felvett infravörös spektrumoknak a referencia színeképpel való összehasonlításakor megállapítottam, hogy az alkalmazott energiasűrűségeknel készült vékonyrétegek kémiai összetétele, kötősszerkezete hasonló az eredeti pepszinéhoz, kivéve a legalacsonyabb, 0,24 J/cm² energiasűrűséggel készült vékonyréteget. Ezek alapján elmondható, hogy a legalacsonyabb energiasűrűséget alkalmazva valószínűleg nem sikerült valódi pepszin vékonyréteget leválasztani.



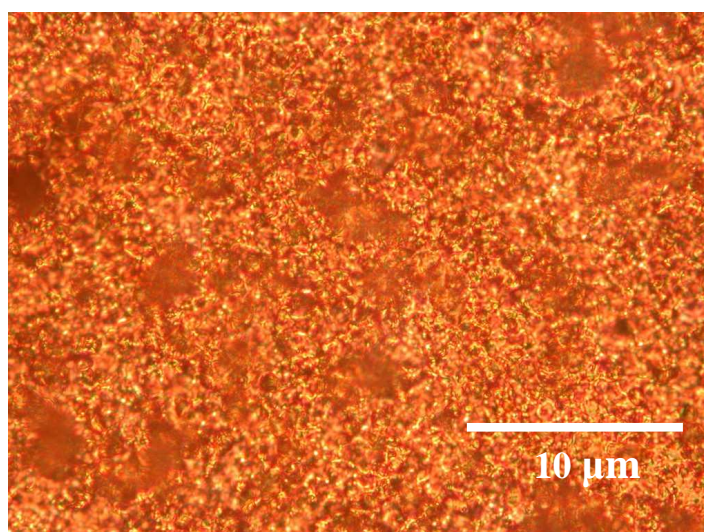
20. ábra: A KBr tablettára különböző energiasűrűségekkel leválasztott pepszin vékonyrétegek (piros) és a KBr-ba kevert pepszin (fekete) infravörös spektrumai.

A kötősszerkezetek megállapítása után a morfológiai vizsgálatokhoz üveglapra választottam le vékonyrétegeket 0,24-5,1 J/cm² energiasűrűségek alkalmazásával. 5,1 J/cm² energiasűrűséggel és 16000 impulzusszámmal készült vékonyrétegről készített AFM-es felvételek a 21. ábrán láthatók. A vékonyréteg felületén jól látszanak a pepszin szemcsék, melyek egy összefüggő tömör réteget hoztak létre.



21. ábra: Az $F= 5,10 \text{ J/cm}^2$ energiasűrűségnél és $N=16000$ impulzusszámmal leválasztott pepszin vékonyrétegről készített atomerő mikroszkópos képek.

Ezt a vékonyréteget NIKON optikai mikroszkóppal is megvizsgáltam és különböző nagyításokkal képeket készítettem róla. Az optikai mikroszkóppal készült fotón (22. ábrán) is jól látható, hogy a vékonyréteg szemcsés szerkezetű, a felvételen jól kivehetők a pepszinkristályok.

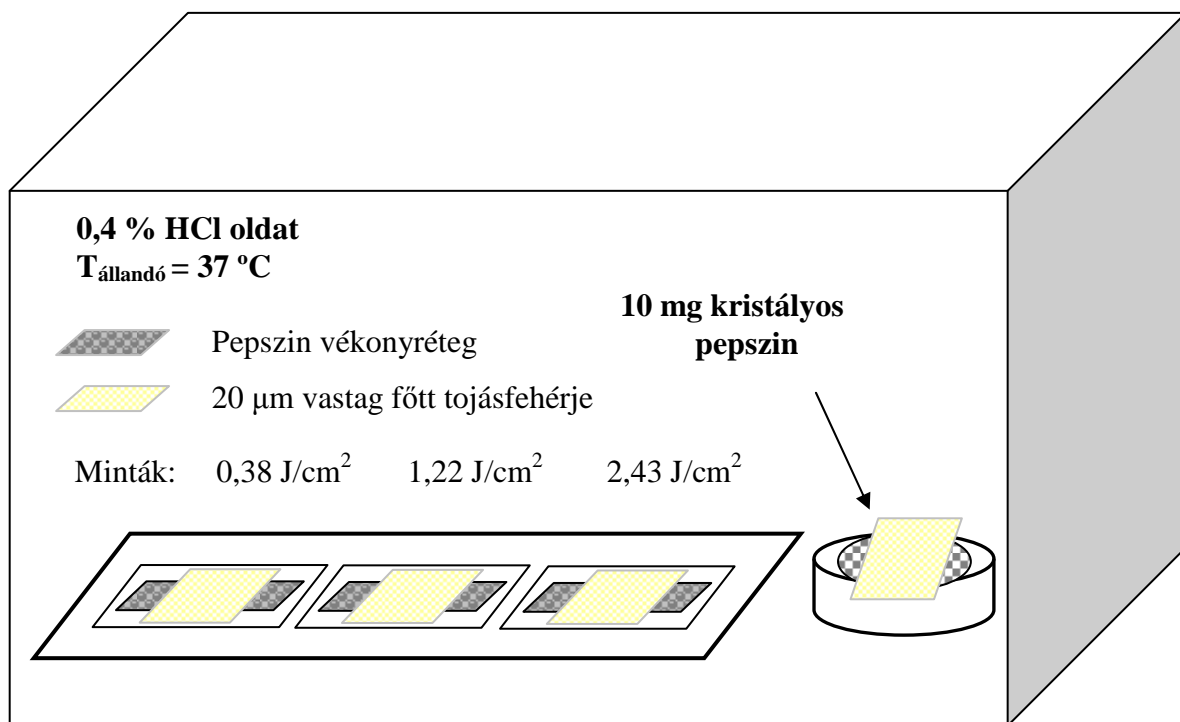


22. ábra: $5,10 \text{ J/cm}^2$ energiasűrűséggel készült vékonyréteg felületének optikai mikroszkópos képe.

5.2.2. A vékonyrétegek enzimatisuk aktivitásának vizsgálata

Felmerült az a kérdés, hogy mivel biológiai anyagokkal dolgoztam, és azok infravörös spektrométerrel felvett színeképeiről kiderült, hogy az eredeti anyag kémiai szerkezetéhez hasonló szerkezetű vékonyrétegeket választottam le, vajon emellett megtartották-e biológiai aktivitásukat is. Dr. Nógrádi Antal orvos kollégám segítségével egy kísérleti elrendezést állítottunk össze annak vizsgálatára, hogy a hasonló kémiai szerkezetű minták hogyan viselkednek olyan közegben, ahol az eredeti anyag biológiailag aktív. Különböző energiasűrűségek mellett, üveglemezre leválasztott vékonyrétegeken az enzim emésztési mechanizmusának működését vizsgáltuk. A rétegek létrehozásához alkalmazott energiasűrűségek: 0,38; 1,22; 2,43 J/cm²-ek voltak.

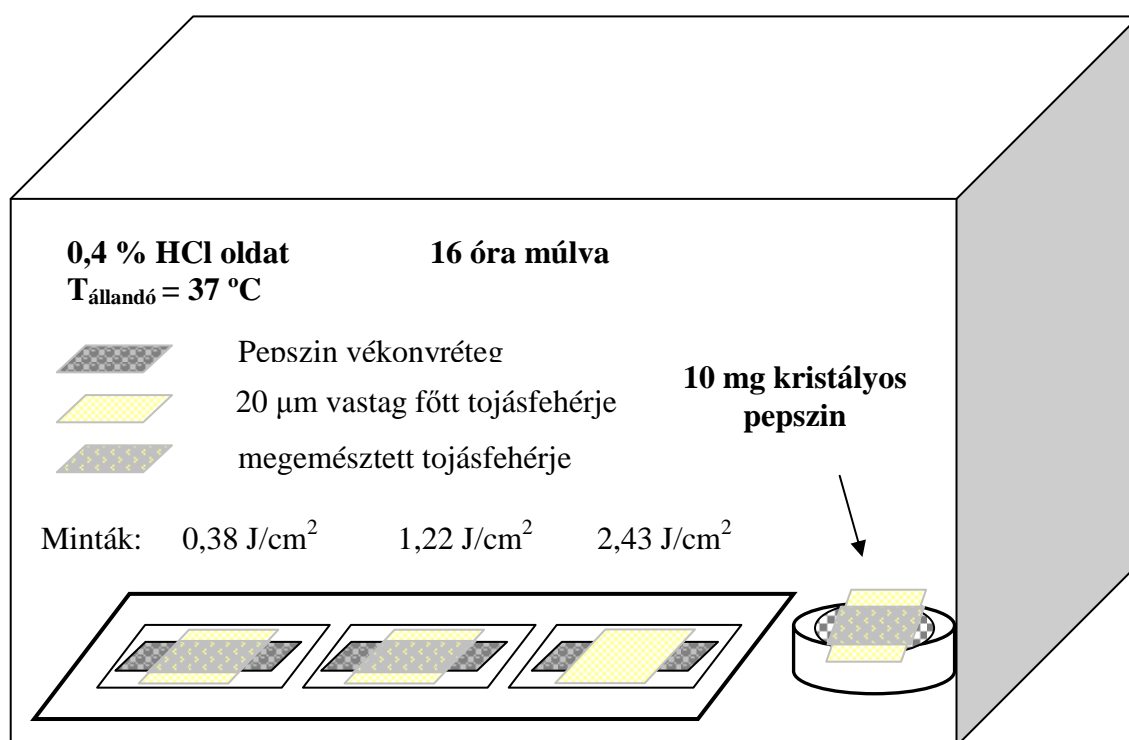
A vizsgálatot egy kamrában végeztük. A 23. ábrán látható az emésztési kísérlethez összeállított elrendezés. Itt az emésztési folyamathoz legkedvezőbb feltételeket hoztuk létre. A kamrában az emberi testhőmérsékletnek megfelelő 37 °C hőmérsékletet tartottuk. A pepszin működésének beindulásához azonban szükség volt a sósav jelenlétére is, ezért a kamrába 0.4 %-os HCl oldatot párologtattunk. Egy 10 mg-os kristályos pepszin tablettát is elhelyeztünk kontrollmintaként.



23. ábra: A pepszin vékonyrétegek biológiai aktivitását kimutató kísérlet.

20 μm vastagságú főtt tojás fehérje szeleteket vágunk, melyeket a mintákra és a referencia pepszin tablettára helyeztünk. 16 óra múlva azt tapasztaltuk, hogy a kontroll tablettáról és a három vizsgált minta közül kettőről eltűnt, elemészódott a tojásfehérje, vagyis ezeknél a pepszin rétegeknél megfelelően lezajlott az emésztési folyamat (24. ábra).

A korábban KBr tablettákra leválasztott pepszin vékonyrétegek infravörös spektrumából látható volt, hogy a különböző energiasűrűségek esetén elkészített vékonyrétegek spektrumai jó közelítéssel megegyeztek az eredeti pepszin spektrumával. A vékonyrétegek, amelyek megemésztették a tojásfehérjét 0,38 és 1,22 J/cm^2 -es energiasűrűség értékeknél készültek. A 2,4 J/cm^2 energiasűrűséggel leválasztott rétegen a főtt tojásfehérje eredeti állapotában megmaradt a vékonyréteg felületén, ami azt jelenti, hogy az FTIR spektrumok hasonlósága ellenére a vékonyréteg itt és feltételezhetően ennél magasabb értékeknél elvesztette biológiai funkcionalitását [T2].



24. ábra: A emésztési kísérletben 16 óra elteltével tapasztalt változások.

Összegzés:

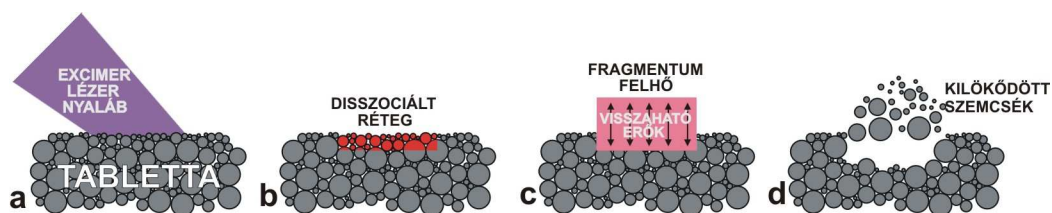
Impulzus lézeres vékonyréteg leválasztási technikával sztöchiometrikus vékonyréteget építettem a pepszin enzimből. A 0,38 és 1,22 J/cm² energiasűrűséggel leválasztott pepszin vékonyrétegekkel végzett emésztési kísérletek azt mutatták, hogy ezek a rétegek megtartották biológiai aktivitásukat, emésztési jellegüket is.

5.3. A szerves anyagokból történő anyageltávozás empirikus modellje

Az előbbieken bemutatott eredmények alapján megállapítható, hogy pepszin vékonyréteg leválasztási kísérleteim sikeresek voltak, azaz a PLD során mégis sikerült átvinni biológiailag aktív molekulákat. Nehéz azt elképzelni, hogy ilyen összetett molekulákat tartalmazó céltárgyból - mint például a 19 aminosavból álló pepszin enzim – a klasszikus PLD-ről szóló modellekben leírtak alapján választanánk le vékonyrétegeket, vagyis az eljárás közben az anyagot kémiai szétbontjuk, majd azt a hordozón újra „összeállítjuk”. Mivel azonban a pepszin PLD kísérleteim sikeresek voltak, egy olyan leválasztási modellt kellett kidolgozni, amivel ez megmagyarázható.

Témavezetőm segítségével olyan vékonyréteg leválasztási modellt dolgoztunk ki, amely jelenségi szinten leírja a lézernyaláb-célanyag kölcsönhatása során lejátszódó folyamatokat. Pepszin porból préselt tabletták felszínében a folyamat első lépésként egy- vagy többfotonos folyamatok révén a lézerfény elnyelődik. A megvilágított térfogatból, ahol fotokémiai és fototermális bomlási folyamatok hatására a felületre merőlegesen nagysebességű plazmaállapotú anyagfelhő lép ki (25. ábrán), mely atomokat, molekulákat, elektronokat, ionokat, mikronos méretű szilárd szemcséket és olvadék cseppeket tartalmaz. Az eltávozó ablátum nagy sebességének következtében nagy impulzussal rendelkezik, mely visszahat a mintára. A rövid hatásidő extrém nagy erőlkést eredményez, mely kitesztítja a felszínből a gyengén kötött szemcséket, melyek nem mozdulhatnak másfelé, csakis a hordozó irányába. Feltevésünk szerint az anyagfelhő ekkor sértetlen molekulákat tartalmazó szemcséket sodor magával, melyek aztán a hordozón létrehoznak egy sztöchiometrikus vékonyréteget. Ennek a vékonyréteg építési módszernek a hatékonysága abban rejlik, hogy nem egy homogén tömbi anyagból történik a leválasztás, hanem mikron méretű szemcsékből álló, kevésbé kötött

céltárgyból. Lehetőség van a fellépő erőknek ezen részeket kiszakítani anélkül, hogy a bennük lévő komplex molekulákat károsodás érné.



25. ábra: Az anyageltávozás folyamata porból préselt tabletta ablációjakor.

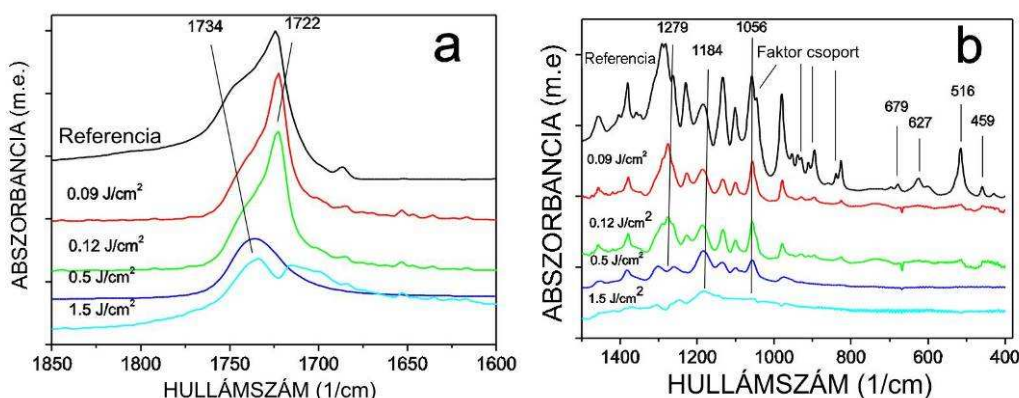
Tapasztalataink szerint ez a modell érvényes a kísérleteinkben használt többi szerves anyag esetén is. Az általunk feltételezett modellel jól magyarázható a különböző mikroszkópokkal megfigyelt rétegalkotó, viszonylag nagyméretű, mikrométeres szemcsék kialakulása is, illetve azok a folyamatokat, amelyek hatására az említett sérülékeny biológiai anyagok károsodás nélkül átmásolódnak a hordozóra, réteget képezve annak felületén.

5.4. A poli-hidroxi-butirát impulzuslézeres vékonyréteg építése

Az orvosbiológia számára nagy kihívás a szövetbarát (biokompatibilis) bioanyagok kialakítása. A "megfelelő" bioanyag azt jelenti, hogy sem rövid- sem hosszú távon ne legyen mérgező, allergén, vagy gyulladáskeltő hatású. Ne váltson ki immunológiai válaszreakciót, ne legyen rákkeltő, ne károsítsa a környező szöveteket, hanem minél inkább elősegítse a belőle készült eszköz sikeres működését az alkalmazás során. A következőkben egy biológiailag is lebomló polimerrel folytatott vékonyréteg építési kísérleteimet mutatom be.

A vékonyrétegek előállításához különböző energiasűrűségeket használtam, hogy meghatározzam azt az energia értéket, amelynél a legjobb tulajdonságokkal rendelkező réteget tudom leválasztani. A vizsgált energiasűrűség értékek: 0,05; 0,09; 0,12; 0,15; 0,3; 0,4; 0,5 és 1,5 J/cm² voltak. A vákuumkamrában alkalmazott nyomás értéke $2,7 \times 10^{-3}$ Pa, a céltárgyon mért foltméret 0,8 mm², a céltárgy és a hordozó közti távolság ~4 cm, a hordozó KBr tabletta és szilícium lap volt. A rétegek leválasztásához

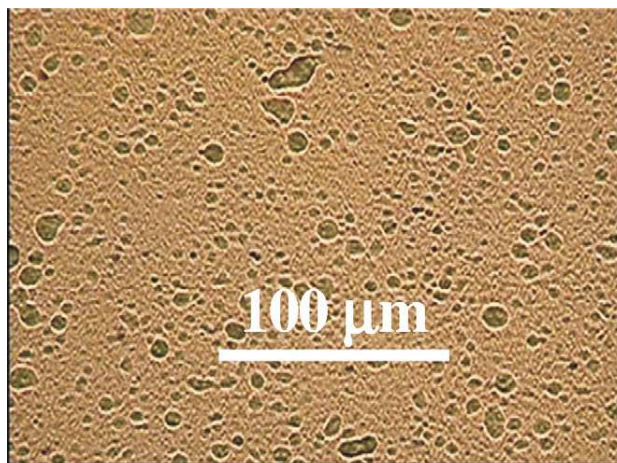
szobahőmérsékleten 100 000 impulzust használtam. A rétegek kötősszerkezetét vizsgáltam meg először, a felvett spektrumok a 26. ábrán láthatók. A 400-2000 cm^{-1} tartományban a spektrum 1850-1600 cm^{-1} szakasza tartalmazta a polimer legdominánsabb funkciós (észter) csoportjának legkarakterisztikusabb csoportját, a C=O nyújtási rezgési módot. Amint az a 26. a) ábrán is látható, a C=O rezgési módhoz tartozó sáv a kb. 0,12 J/cm^2 energiasűrűség értékig megtalálható a filmek spektrumaiban is, nagyobb energiasűrűségnél viszont a spektrumok egységeinek beazonosítása nehezebb, jelentősen torzul a spektrum. Az észter csoport többi módozata már összetettebb. A polimer lánc spektrumához többé-kevésbé a C-C és a C-O kötések is hozzájárulnak, így az 1300-950 cm^{-1} –es tartományban megjelennek ezek a csoportok, amelyek a polimer lánc fizikai és kémiai állapotával kapcsolatban hordoznak információt. Ugyanitt található még az észter csoport C-O-C(=O)-C részének megfelelő három sáv is [94]. Mindig van egy csoport 1260 és 1160 cm^{-1} között, egy kb. 1050 cm^{-1} -nél és egy harmadik, 1280-1290 cm^{-1} környékén (26. b) ábra). Általában ezek a csoportok intenzívebbek és szélesebb félértékszélességűek, mint a tartomány többi csoportjához tartozó csúcsok. Így a mintáim esetén az 1279, 1184 és az 1058 cm^{-1} -nél található csúcsok jelölhetik a polimer észter csoportjait. A kiinduló anyag spektruma keskeny csúcsokból áll ebben a tartományban, ami azt mutatja, hogy a vizsgált polimer félkristályos szerkezetű. A lézersugárzás által felmelegített, lerakódott anyag nagyon gyorsan lehűl a hordozó felületén, de nincs idő a levált anyag kikristályosodására, ez azt eredményezi, hogy a rétegben a kristályosodási arány kisebb lesz mint a céltárgy anyagában. A félkristályos szerkezet elvesztése miatt a csoportokhoz tartozó csúcsok intenzitása nagyon lecsökken 950 cm^{-1} alatt [95]. Amikor a C=O nyújtási rezgési mód 1722 cm^{-1} -nél megszűnik, az 1279 cm^{-1} -nél lévő csoport szintén eltűnik. Az 1,5 J/cm^2 energiasűrűségnél leválasztott minta spektruma csak néhány, karakterisztikus csoportot jelez, amelyek az eredeti anyagra is jellemzőek. Ezek a polimerlánc molekulákra esésének (dekompozíciójának) illetve a teljesen rendezetlen leválasztott rétegnek tulajdoníthatók, ahol a kötések közötti legalapvetőbb kölcsönhatás is hiányzik. Egy másik ok, amiért ez a csúszás megjelenhet, hogy a karbonilcsoport oxigénjének a környezetével való kölcsönhatása lecsökken. A 0,12 J/cm^2 -nél nagyobb energiasűrűséggel leválasztott minták spektrumának deformációját a hidroxibutirát molekula láncának dekompozíciójával magyarázhatjuk.



26. ábra: Az eredeti PHB és a leválasztott filmek FTIR spektruma különböző energiasűrűségek alkalmazása esetén. (a) Az 1850-1600 cm^{-1} tartományban található a legjellemzőbb sáv ($\text{C}=\text{O}$ nyújtási rezgés), (b) míg alacsonyabb hullámszám értékeknél az észter csoport $\text{C}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}$ részének abszorpciós és a fizikai állapotról számot adó sávok láthatók.

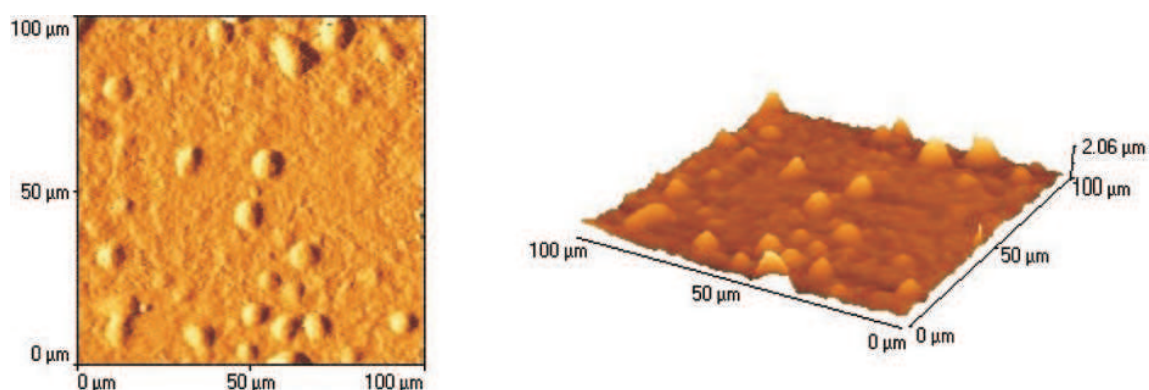
A spektrumok vizsgálata alapján megállapítottam, hogy az általam tanulmányozott energiasűrűség tartományból a $0,12 \text{ J/cm}^2$ körüli és annál alacsonyabb értékek alkalmazása esetén kapunk sztöchiometrikus PHB vékonyrétegeket.

A rétegek kémiai szerkezetét ismerve megvizsgáltam azok morfológiáját is. A 27. ábrán a $0,12 \text{ J/cm}^2$ energiasűrűséggel készített PHB réteg optikai mikroszkópos képe látható. A kép alapján elmondható, hogy egy viszonylag durva felületet kaptam, ahol mikrométeres nagyságú szemcsék jelenléte figyelhető meg az összefüggő rétegen. A 28. ábrán látható a $0,12 \text{ J/cm}^2$ energiasűrűségnél leválasztott réteg AFM-mel készült képe. A lerakódott részecskék maximális laterális mérete $30 \mu\text{m}$ volt a vékonyréteg közepén, míg a réteg szélein (kb. $1,5 \text{ cm}$ -re a szubsztrát centrumától) ez a méret kisebb volt mint $3 \mu\text{m}$. Mivel a céltárgyat mikronos nagyságú részecskékből préseltük össze, ezért a rétegen látható részecskék többsége az abláció során keletkezett, a céltárgy felszínéből lett kiszakítva.



27. ábra: A 0.12 J/cm^2 energiasűrűséggel leválasztott PHB vékonyréteg optikai mikroszkópos képe.

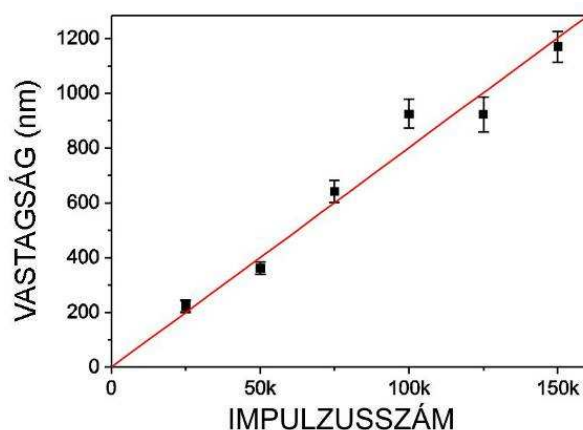
Figyelembe véve a rétegek kötősszerkezetét és morfológiáját, megállapíthatjuk, hogy optimális leválasztási körülmények között kémiaiag sértetlen polimer molekulák, monomerekből származó részecskék és cseppek alkotják a leválasztott réteget. A $0,12 \text{ J/cm}^2$ –nél nagyobb energiasűrűséggel készült rétegek túlnyomó részt csak sérült molekulákat tartalmaznak. A részecskék, amelyek ezeket a rétegeket alkotják az energiasűrűség emelkedésével fokozatosan felbomlanak, így okozva nagyobb számú kémiaiag sérült molekulákat és monomereket a rétegben.



28. ábra: 0.12 J/cm^2 energiasűrűséggel leválasztott réteg atomierő mikroszkóppal készített képe.

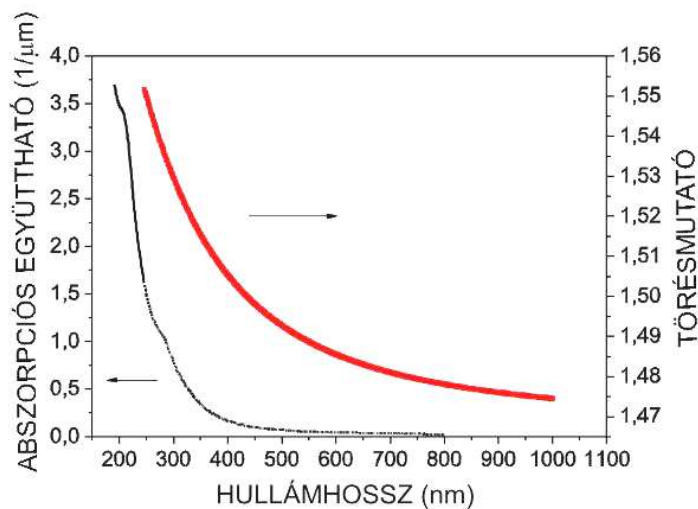
A $0,12 \text{ J/cm}^2$ energiasűrűséggel készített rétegek vastagságának és optikai tulajdonságainak (a valós és a képzetes törésmutatók, n és k) meghatározásához egy spektroszkópiai ellipszométert alkalmaztunk dr. Tóth Zsolt kollégámmal. A

próbanyaláb hullámhosszát a 245-1000 nm, a beesési szöget a 45-65° tartományokon változtattuk. A mért értékeket parametrikus Cauchy-modell szerint illesztettük. A 29. ábra mutatja a rétegvastagság – impulzusszám függvényt. A mérési pontokra illesztett egyenes meredeksége adja meg az átlagos leválasztási sebességet, amely 0,008 nm/impulzusnak adódott.



29. ábra: A leválasztott PHB rétegek vastagságának impulzusszám függése. Az alkalmazott energiasűrűség $0,12 \text{ J/cm}^2$ volt. A mérési pontokra illesztett egyenes meredeksége adja meg az átlagos leválasztási sebességet, amely 0,008 nm/impulzusnak adódott

Az ellipszométeres adatok alapján meg tudtuk határozni az elkészített PHB filmek törésmutatójának hullámhosszfüggését, mely normális diszperziót mutatott a vizsgált tartományon, azaz csökkent a hullámhossz növelésével. A 30. ábrán a $0,12 \text{ J/cm}^2$ energiasűrűséggel leválasztott rétegre vonatkozó értékeket mutatom be. Kiszámítottuk a rétegek abszorpciós együtthatóját is a különböző hullámhosszakra, mely szintén ezen az ábrán látható. Ezek az adatok azért is jelentősek, mert korábban ezekre vonatkozó irodalmi értékek nem voltak találhatók [T3].



30. ábra: $0,12 \text{ J/cm}^2$ energiasűrűség alkalmazásával leválasztott PHB rétegek törésmutatójának és abszorpció együtthatójának hullámhosszfüggése.

Mivel lehetséges orvosi alkalmazásokhoz próbáltam polimer vékonyrétegeket készíteni, felmerült, hogy talán fül-orr-gégészeti problémák, pl. beszakadt dobhártyák helyreállíthatók (foltozhatók) lehetnének az általam leválasztott PHB vékonyrétegekkel. A dobhártya rugalmas szövet, ezért a pótlására, ideiglenesen helyettesítésére kifejlesztett anyagnak is megfelelő rugalmassággal kell rendelkeznie. A 31. ábrán egy szemantikus rajz látható a sérült dobhártya műtéti úton történő pótlásáról. A PHB réteg porózus szerkezetének köszönhetően „nem teljesen” zárja le a sebet, a dobhártyaműtétek után felgyülemelő folyadékot átengedné, így könnyebben kitisztulhatna a belsőfül. A beszakadt dobhártya helyreállító műtét nélkül is visszánő egy idő után, viszont a ráhelyezett vékonyréteg biztosabb felületet, helyes irányt és hegesezés nélküli gyógyulást biztosíthatna a beforni kívánó szövetnek. Így elsősorban a sérülés következtében felléphető hallásromlást lehetne kiküszöbölni. Az általam leválasztott polimer réteg biológiai lebonthatósága miatt a szervezetben - az alatt az idő alatt, míg a dobhártya visszánő - le is bomlana. Így, szinte egy időben az új szövet kialakulásával, a PHB réteg is eltűnne.



31. ábra: A dobhártyát helyreállító műtét vázlatos rajza. A dobhártyát pótló szövet lehetne az általunk leválasztott PHB réteg.

Összegzés:

Impulzus lézeres vékonyréteg leválasztási technikával sztöchiometrikus vékonyréteg választható le poli-hidroxi-butirátból. Az ennek megfelelő energiasűrűség tartományt sikerült megállapítani. Az ellipszometriás mérések alapján sikerült meghatározni a rétegek vastagságát, valamint a PHB törésmutatójának és abszorpciós együtthatójának hullámhossz függését, melyre korábban nem volt az irodalomban adat.

5.5. Biológiai vékonyrétegek fs-os impulzuslézeres vékonyréteg építése- irányított sejtnövekedés megvalósítása

Korábbi kísérleteim alapján megállapítható, hogy a nanoszekundumos excimer lézerek adott kísérleti paraméterek esetén alkalmasak sztöchiometrikus vékonyrétegek leválasztásra biológiai és biokompatibilis céltárgyakból. Azonban a lézersugárzás erősen roncsoló termális hatása miatt az összetett, szerves molekulákat tartalmazó céltárgyakból csak viszonylag alacsony energiasűrűségekkel lehet azonos összetételű vékonyréteget leválasztani. Azonban feltételeztem, hogy femtoszekundumos impulzusok alkalmazásával a káros hőhatás jelentősen csökkenthető, s így nagyobb energiasűrűségek alkalmazása esetén is megóvhatók az érzékeny biológiai minták.

Erre vonatkozóan számításokat végeztem nano- (3. egyenlet) és femtoszekundumos (4. egyenlet) impulzusok esetén. Az általam alkalmazott

impulzushossz 500 fs volt, ami azt jelenti, hogy az impulzus energiának nincs ideje hővé átalakulni, számottevő hőhatásról tehát nem beszélhetünk. Mivel csak PMMA esetében álltak rendelkezésemre a szükséges fizikai adatok, így a végbemenő lézeres hatást ennek paraméterei alapján számítottam ki. A PMMA-ra vonatkozó hődiffúziós hossz egy 20 nano- és egy 500 femtoszekundumos lézerimpulzus esetén:

$$L_{20ns} = 2 \cdot \sqrt{D \cdot \tau} = 2 \cdot \sqrt{\frac{k}{\rho \cdot c} \cdot \tau} = \sqrt{\frac{0,2 \left[\frac{J}{sKm} \right]}{1800 \left[\frac{kg}{m^3} \right] \cdot 1466 \left[\frac{J}{kgK} \right]}} \cdot 20 \cdot 10^{-9} [s] \approx 76 \text{ nm}, \quad (3)$$

$$L_{500fs} = 2 \cdot \sqrt{D \cdot \tau} = 2 \cdot \sqrt{\frac{k}{\rho \cdot c} \cdot \tau} = \sqrt{\frac{0,2 \left[\frac{J}{sKm} \right]}{1800 \left[\frac{kg}{m^3} \right] \cdot 1466 \left[\frac{J}{kgK} \right]}} \cdot 500 \cdot 10^{-15} [s] \approx 0,4 \text{ nm}, \quad (4)$$

ahol D a hődiffúziós együttható, k a hővezetési tényező, ρ a sűrűség, c a fajhő és τ az impulzushossz. Mint látható, az érték egy 500 fs-os impulzus estében már csak kb. 0,4 nm, azaz kb. kétszázszor kisebb, mint a nanoszekundumos besugárzás esetén. Ennek megfelelően az utóbbi esetben számottevő termális folyamatról, környezeti hőkárosodásról nem beszélhetünk a lézerrel kezelt terület körül sem. Összegezve tehát, nanoszekundumos lézerimpulzusok esetén termális, míg femtoszekundumos esetben döntően fotokémiai folyamatok zajlanak le a besugárzott anyagban. Szilárd testek esetén a beeső sugárzás megolvasztja, majd részben elpárologtatja a felületi réteget. Femtoszekundumos lézerimpulzus hatására szilárd-gőz, vagy szilárd-plazma fázisátalakulás megy végbe közbenső állapot nélkül.

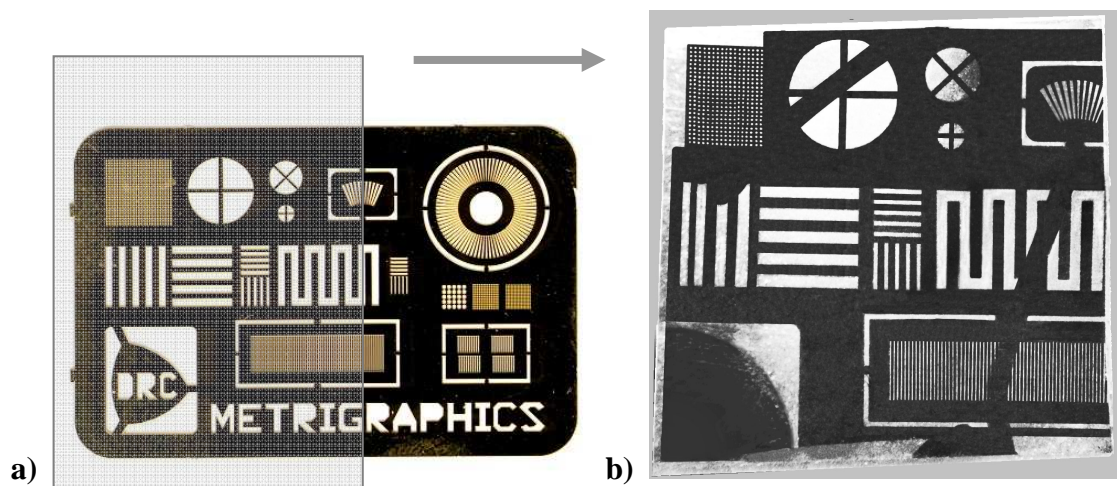
A kísérletek során céltárgyként keményítőbe kevert Na-alginát, fibronectin, endothel sejtnövekedést elősegítő anyag és kollagén vékonyrétegeket választottam le annak érdekében, hogy demonstráljam, hogy a sejtmegtapadást elősegítő rétegek strukturált leválasztása lehetővé teheti különböző sejtek irányított megtapadását, növekedését, szaporodását. Mindezt azzal a távlati céllal tettem, hogy egy olyan eljárás-sorozatot dolgozzak ki, melynek alkalmazásával a későbbiekben adott funkciójú sejtekből adott struktúrát alakítsak ki, mely a szövetépítés, regenerálódás területén lehet fontos alkalmazási lehetőség.

A vékonyréteg leválasztási kísérleteket a 4.1. fejezetben leírt 12. b) ábrán látható kamrában végeztem. A vékonyrétegek építése során egy femtoszekundumos KrF excimer lézert használtam a Na-alginát, fibronectin, endothel növekedést elősegítő anyag és kollagén porok keményítővel kevert tablettáinak, mint céltárgyaknak a besugárzására. Ezek a minták voltak. Ezek az anyagok közismert sejtmegtapadást fokozó anyagok kis koncentrációjú keverékben. A keverési arányok a következők voltak: a Na-alginát, az endoteliális sejtmegtapadást elősegítő anyag és a kollagén esetén: 0,025 m%, fibronectinre pedig: 0,0125 m%. A vákuumkamrában átlagosan $1,3 \times 10^{-3}$ Pa volt a nyomás értéke. A vékonyrétegek leválasztását 25000 impulzussal végeztem.

A vékonyrétegek előállításához öt energiasűrűség (F) értéket alkalmaztam: 3,46; 2,75; 2,19; 1,55; 0,9 J/cm². Ezek az értékek először a megfelelő tulajdonságú keményítő-réteg leválasztásának megállapításához kellettek.

A felvett infravörös spektrumoknak a referencia színekkel való összehasonlításakor megállapítottam, hogy a 2,19 J/cm² energiasűrűségeknél készült vékonyrétegek kémiai összetételei felelnek meg legjobban az eredeti keményítő anyagának. Mivel a tulajdonképpeni célanyagok koncentrációja kisebb volt, mint 1 %, így a spektrumukban lévő csúcsokat nem tudtam elkülöníteni a keményítő spektrumának csúcsaitól.

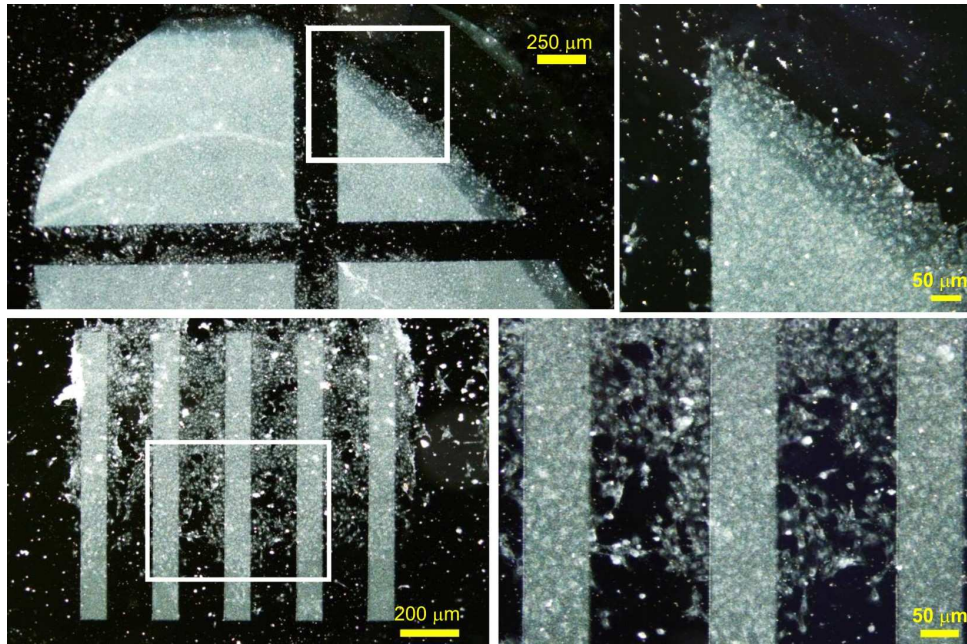
A spektroszkópiai vizsgálatok eredményből viszont még nem derült ki pontosan, hogy a keményítőbe kevert anyagokat is sikerült-e sérülésmentesen leválasztani a keményítő molekulákkal együtt. Ennek felderítésére sejtmegtapadási kísérleteket végeztem. Ehhez szilícium lapokra helyezett réz maszk (32. a) ábra) segítségével különböző struktúrájú rétegek rakódtak le a felületre, minden réteg esetén 25.000 lézerimpulzust alkalmaztam. A többféle mintázat eléréséhez használt réz maszk és az így leválasztott egyik rétegről készült felvétel a 32. b) ábrán látható.



32. ábra: a) A PLD során alkalmazott réz kontakt maszk. b) Szilíciumlapra leválasztott réteg, jól láthatók a maszk által kialakított különböző alakú struktúrák.

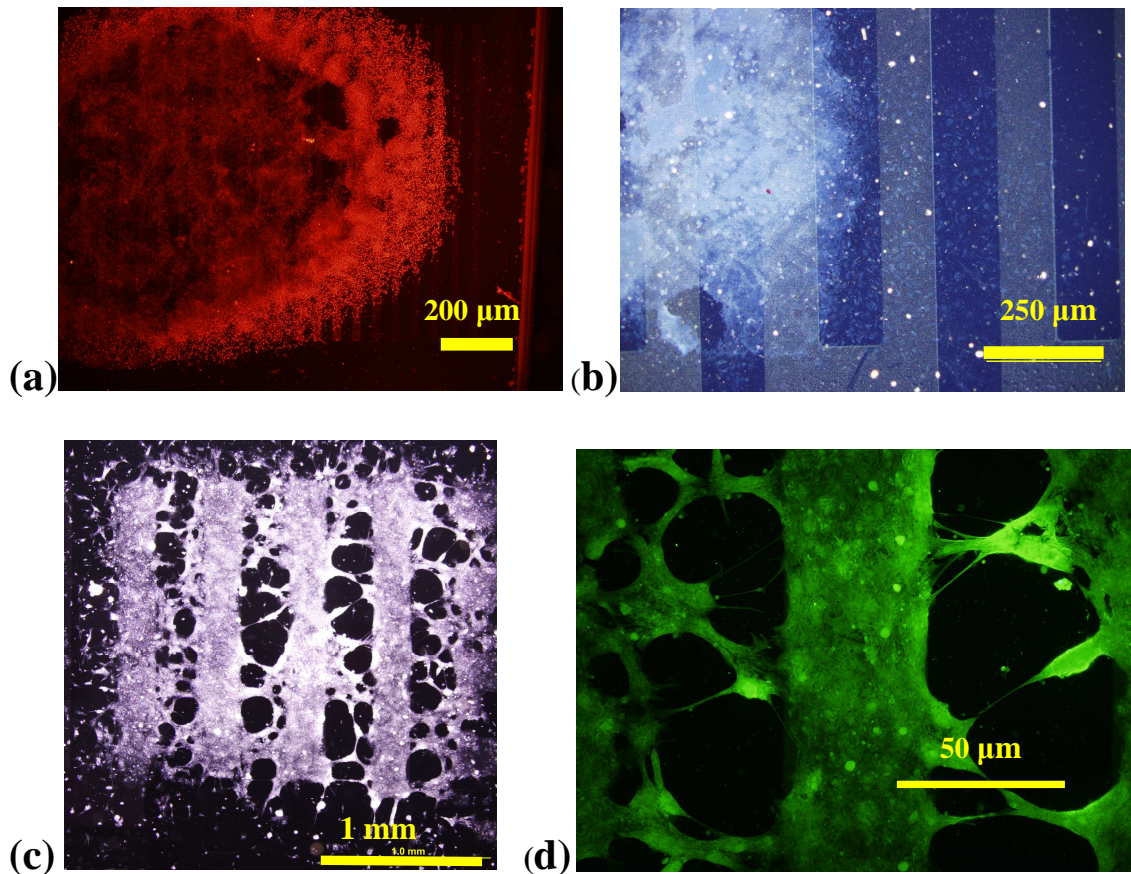
A kísérletek célja az irányított sejtmegtapadás és sejtnövesztés elősegítő rétegek készítése volt. Dr. Nógrádi Antal orvos kollégám segítségével a leválasztott rétegek sejtmegtapadási hatékonyságát többféle sejttel is megvizsgáltuk. Az alkalmazott sejtípusok a következők voltak: patkány asztroglia, neuroblaszt, sertés endotélium és egér neuroektodermális sejtek. Ezek koncentrációja 5×10^5 sejt/ml volt. A táptalajban elkevert sejteket 3-4 mm átmérőjű cseppekben, egymástól elkülönítve helyeztük el a különböző rétegekkel bevont Si lapokon. A sejtek láthatóvá tételéhez megfelelő antitesteket és immunhisztokémiát alkalmaztunk. A mintákat optikai mikroszkóppal vizsgáltuk, s egy hozzá kapcsolt Olympus DP70 digitális kamerával fényképeztük.

A 33. ábra mutatja sertés endotélium sejtek specifikus és irányított megtapadását, növekedését a sejtmegtapadást elősegítő adalékot tartalmazó réteg esetén. A vizsgálatok azt mutatták, hogy a sejtek a leválasztott rétegen tapadnak meg, elkezdnek növekedni, szaporodni, elegendően nagy sűrűség esetén viszont már kinyúlnak a szilícium hordozó felület felé is. A képek elkészítése és kiértékelése Dr. Szabó András biológus kollégám segítségével történt.



33. ábra: Sertés endotélium sejtek endoteliális sejtmegetapadást elősegítő adalékot tartalmazó keményítő vékonyréteg struktúráján

A sejtmegetapadási kísérletekben hasonló viselkedést lehetett megfigyelni neuroblaszt és egér neuroektodermális sejtek esetén is kollagént, illetve Na-alginátot vagy fibronektint tartalmazó vékonyrétegek kölcsönhatásának vizsgálata során. Az asztroglia sejtek kevésbé intenzív növekedést, szaporodást mutattak, azonban ezek irányítottsága, viselkedése is hasonló volt a korábbi sejtek esetén megfigyeltekhez [T4]. A kísérletek tapasztalatait a 34. a), b), c), d) ábrán foglalom össze, ahol a leválasztott Na-alginát és fibronektin struktúrákon lévő neuroblaszt, valamint kollagén-keményítő struktúrákra helyezett asztroglia sejtek láthatók. A felvételeken látszik, hogy a sejtek csak a kollagén rétegeken helyezkednek el, illetve már a sejtnövekedés és a szaporodás is megindult, ezért a sejtek már kezdenek egymással összekapcsolódni és így átnyúlnak a fedetlen Si-lapon is.



34. ábra: Neuroblaszt sejtek a leválasztott Na-alginát (a) és fibronectin (b) rétegeken, valamint asztroglia sejtek a leválasztott kollagén tartalmú rétegen különböző nagyításokkal (c, d).

Kontrollképpen tiszta keményítőből is készítettem hasonló körülmények között vékonyrétegeket, s ezekre is tettünk sejtes táptalajokat. A vizsgálatok azt mutatták, hogy a tiszta keményítőből álló rétegek nem befolyásolták a sejtek megtapadását, fejlődését és szaporodását. Ez azt bizonyította, hogy a rétegleválasztás során a keményítővel együtt sejtmeztapadást elősegítő anyagokat is sikerült a Si lapokra leválasztani.

Összegzés:

Femtosekundumos PLD módszerrel lehetséges sejtmeztapadást elősegítő anyagokból vékonyréteget leválasztani és ezek segítségével lehetőség van adott típusú sejtekből álló mintázatok kialakítására. A tervezett további kutatások az orvostudományban való alkalmazhatóságra terjednek ki, mint például a sejtalapú bioszenzorok előállításában, az élő szövetek építésében és a sérült szövetek helyreállítása területén.

5.6. A poli-metil-metakrilát ablációja és a leválasztott részecskék méretének vizsgálata

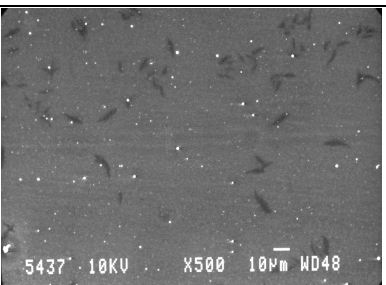
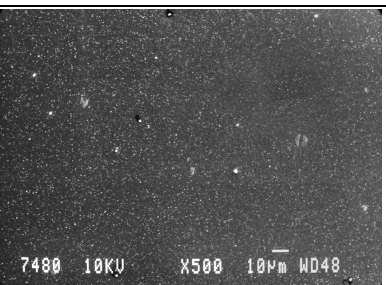
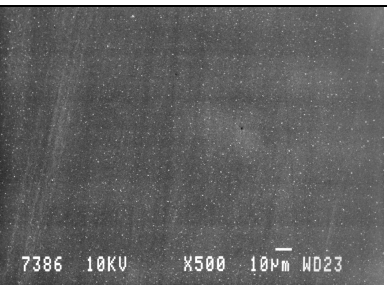
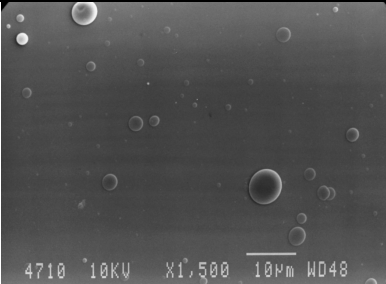
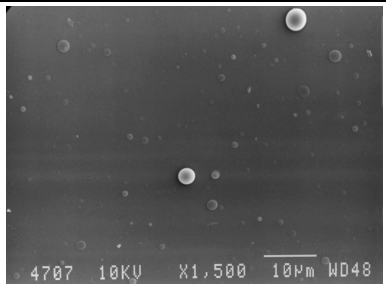
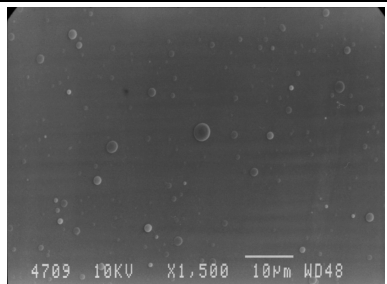
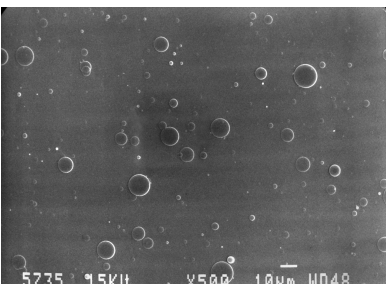
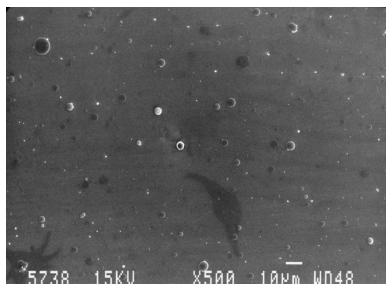
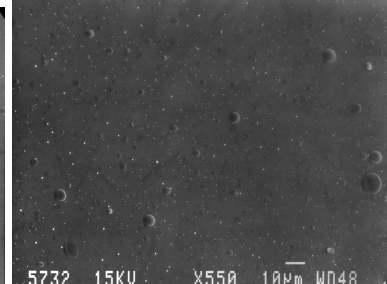
Ezen kísérleteim során megvizsgáltam, hogy hogyan és milyen feltételekkel lehetne PLD technikát alkalmazva nanométeres polimer szemcséket leválasztani poli-metil-metakrilátból. A polimerek impulzus lézeres ablációjakor kiszakadó részecskék megfigyeléséről és tulajdonságaikról sok tanulmányban nyilatkoztak már (2.3. fejezet). Meg kívántam vizsgálni a hordozók felületén lerakódott polimer részecskék méreteloszlását a kiindulási polimer molekulatömegének és az alkalmazott lézerimpulzusok hullámhosszának függvényében.

Ebben a kísérletsorozatban három különböző hullámhosszúságú nanoszekundumos excimer lézer nyalábját (193, 248, és 308 nm) alkalmaztam a polimer-céltárgyak besugározására. A céltárgyakat a 4.1. fejezetben leírt 12. b) ábrán látható PLD vákuumkamrában különböző energiasűrűségű és számú lézerimpulzusokkal sugároztam be. A kísérletek alatt a céltárgy-szubsztrát távolsága ~4,5 cm, a mintákra fókuszált lézernyaláb foltmérete 1-2,5 mm² és a kamrában lévő nyomás értéke 10⁻⁶-10⁻⁷ Pa volt. Céltárgyként különböző molekulatömegű - 2,5 kDa, 120 kDa, 996kDa - PMMA (Sigma Aldrich) polimer porokból készült oldatokat használtam. A céltárgyakat a polimerek és oldószerük (dikloro-metán-CH₂Cl₂ vagy toluol-C₆H₅CH₃) adott koncentrációjú oldatának üveg, ill. kvarc lapokra rácsepegtetett és minimum 8 órás száradás után a lapok felületén maradó polimer rétegek (10-100 µm) képezték. A kamrában elhelyezett céltárgyakat egy léptetőmotor segítségével folyamatosan forgattam, annak érdekében, hogy az egyes lézerimpulzusok mindig más helyen ablálják a polimereket, azaz mindig ott, ahol még van polimer réteg a céltárgy felületén.

Nanoszekundumos UV excimer lézeres abláció hatására kiszakadó és kvarclapra leváló PMMA polimer részecskék méretét és eloszlását vizsgáltam. A lerakódott rétegeket, részecskéket optikai mikroszkóppal, atomi erő mikroszkóppal, pásztázó elektron mikroszkóppal és profilométerrel tanulmányoztam.

Mivel három külön kísérletet végeztem, ezeknél különböző hullámhosszúságú lézernyalábbal sugároztam be a mintákat, ennek megfelelően az alkalmazott energiasűrűség értékeket is változtatnom kellett. A polimer felületén kisebb mértékben abszorbeálódó hullámhosszak (248 nm, 308 nm) esetén a polimer ablációs küszöbértéke növekszik a molekulatömeg növekedésével, míg az erősen abszorbeálódó hullámhosszon (193 nm) a PMMA ablációs küszöbértéke közel azonos a különböző molekulatömegű polimerekre, így az alkalmazott energiasűrűség értékek is ennek megfelelően csak alig tértek el egymástól. A PMMA ablációs küszöbértékei a különböző hullámhosszakra: 100 mJ/cm^2 a 193 nm-en, 700 mJ/cm^2 a 248 nm-en és $2,5 \text{ J/cm}^2$ a 308 nm-es hullámhosszon. A célom volt megtalálni azokat a leválasztási paramétereket, melyeknél minél apróbb, nanométeres részecskéket lehet előállítani.

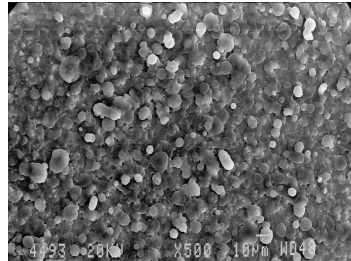
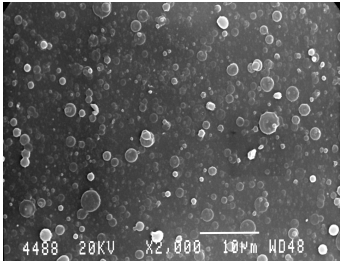
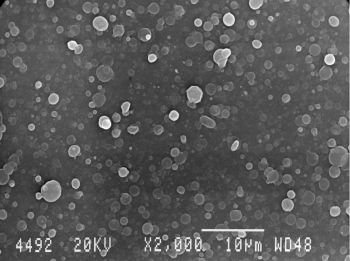
A 193 nm-es ArF excimer lézernyalábbal (FWHM=20 ns) először a legalacsonyabb molekulatömegű mintát besugároztam be. A mintákról készült elektromikroszkópos képeket a 35. a) ábrán mutatom be. Az ablációs küszöbértéknek megfelelő $0,1 \text{ J/cm}^2$ energiasűrűség és 30 lézerimpulzus hatására a 2,5 kDa molekulatömegű mintából kiszakadó és a hordozón lerakódott részecskék mérete kb.: 0,1-2 μm volt. A 120 és 996 kDa molekulatömegű mintáknál kicsit nagyobb energiasűrűség esetén ($0,15 \text{ J/cm}^2$) több anyag rakódott le a szubsztrát felszínén, viszont itt kisebb méretű részecskéket (kb. 0,01-0,1 μm) észleltem (35. a) ábra). A rétegekről AFM-mel készült képeken (37. ábra) viszont jobban észlelhető, hogy molekulatömegtől függetlenül a hordozó felületén lévő részecskék mérete a 200 nm-t nem haladja meg. Megfigyelhető, hogy a közel azonos energiasűrűség mellett a hordozóra lerakódott struktúrák laterális mérete kisebb mint 200 nm. Ez azt mutatja, hogy az ablációs anyagfelhő nagyszámú klasztert tartalmaz és a rétegépülés során ezek rakódnak le a szubsztrátra.

Alkalma- zott lézer hullám- hossza	Molekula tömegek		
	2.5kDa	120kDa	996kDa
a) 193 nm			
b) 248 nm			
c) 308 nm			

35. ábra: Elektormikroszkópos felvételek a 30 lézerimpulzussal besugárzott PMMA mintákból lerakódott részecskékről a) 193 nm-es excimer lézernyaláb hatására ($F=0.1$ és 0.15 J/cm^2), b) 248 nm-es excimer lézerrel besugárzott ($F=0.7$; 1.1 és 1.25 J/cm^2), c) 308 nm-es excimer lézeres besugárzás hatására ($F=2.5 \text{ J/cm}^2$)

A KrF (FWHM=20 ns) excimer lézer nyalábjával besugárzott mintáknál megfigyelhető, hogy valószínűleg a céltárgy felszínének megolvadásából származó folyadékcseppek képződése és kilökődése eredményezi a hordozóra lerakódott cseppeket. A 36. b) ábrán látható, hogy a 2,5 kDa molekulatömegű polimert 30 impulzussal besugározva, a levált részecskék nagyobb méretűek, de számuk kevesebb, mint nagyobb molekulatömegű polimerek esetén. Az 1000 impulzussal leválasztott rétegben a részecskék méretének különbsége még szembetűnőbb (36. ábra). A 2,5 kDa molekulatömegű polimereknél 0.7 J/cm^2 energiasűrűséget használva (az ablációs

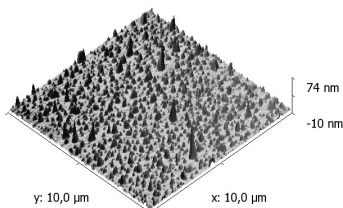
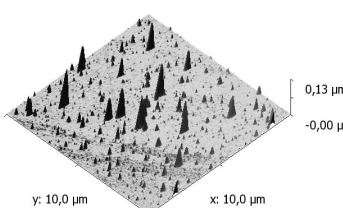
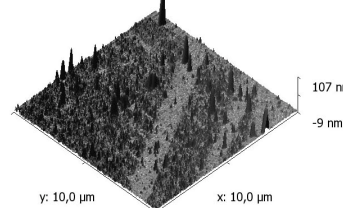
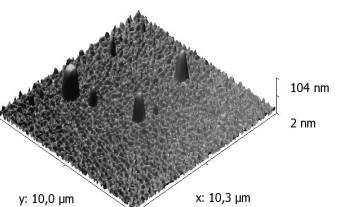
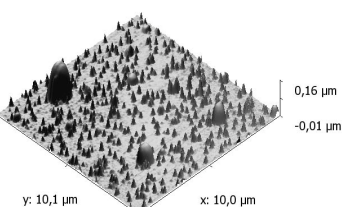
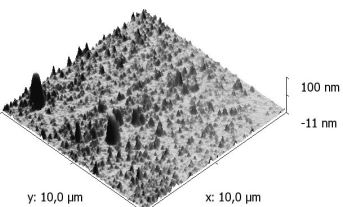
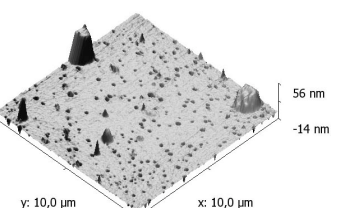
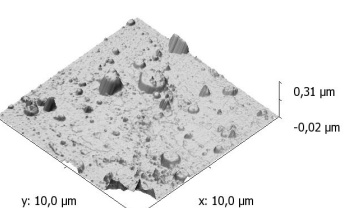
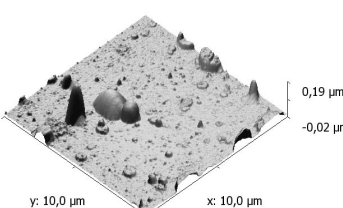
küszöbértékeknek megfelelően), a lerakódott alkotóelemek apró, jól definiálható, gömbölyű részecskék voltak. Növelve az energiasűrűség értékeit, 1,1 és 1,25 J/cm²-t alkalmaztam a 120 és 996 kDa molekulatömegű polimereknél, apróbb és amorf részecskéket figyeltem meg. Összevetve az eredményeket megállapítható a kis olvadék cseppek átmérője a 2,5 kDa molekulatömegű PMMA esetén 1-8 µm volt és a nagyobb molekulatömegű polimereknél 0,5-3 µm. Az 1000 impulzussal leválasztott rétegek profilométerrel lement rétegvastagsága 0,5-3,5 µm volt.

Impulzus -ok száma	Molekula tömegek		
	2.5kDa	120kDa	996kDa
1000 imp.			

36. ábra: Elektormikroszkópos felvételek 248 nm-es excimer lézerrel besugárzott PMMA mintákból lerakódott részecskékről.

A 308 nm-es hullámhosszú XeCl lézerrel (FWHM=30 ns) besugárzott PMMA minták esetén az alkalmazott impulzusok száma 30, az energiasűrűség 2,5 J/cm² volt. Ezen a hullámhosszon a molekulatömeg növelése nagyban befolyásolta a kialakult részecskék méretét és alakját. A mintákról készített elektormikroszkópos képek alapján megállapítható, hogy a nagyobb tömegszámú polimer esetén kisebb részecskéket (1-4 µm) is megfigyelhetünk, míg a legkisebb tömegszámú polimernél viszonylag nagyobb cseppek (2-15 µm) voltak észlelhetők (35. c) ábra).

Összehasonlításként, mindhárom hullámhossznál a lerakódott polimer részecskéket és cseppeket atomi erő mikroszkóppal is megvizsgáltam és a felvett képeket táblázatba foglaltam (37. ábra).

Hullám- hossz (nm)	2.5kDa	Molekula tömegek 120kDa	996kDa
193			
248			
308			

37. ábra: Atomi erő mikroszkópos felvételek különböző molekulatömegű PMMA polimerből leválasztott részecskékről, három különböző hullámhosszú excimer lézeres besugárzás hatására, 30 impulzust használva.

Összegzés

Megállapítottam, hogy adott hullámhossz esetén a hordozón megtapadt részecskék mérete és eloszlása függ a céltárgyak molekulatömegétől. Kis tömegszámú polimer ablációjakor kiszakadó részecskék többnyire monomerek és oligomerek formájában, míg nagy tömegszámúakból többnyire klasztereként kerülnek a hordozókra. Megfigyelhető, hogy a 2,5 kDa molekulatömegű polimerből, a kiszakadó és a hordozókon lerakódott anyag mennyisége jóval több, mint a 120 kDa ill. annál nagyobb molekulatömegű PMMA esetén. Mindhárom hullámhosszon megfigyelhető, hogy a hordozóra leválasztott rétegeket 120 kDa molekulatömeg felett, nagyszámú klaszterek alkotják. Az egyedüli különbség, hogy a 193 nm-en kialakult klaszterek mérete jóval

kisebb, mint a másik két hullámhosszon. Az AFM-es és elektronmikroszkópos képek alapján megállapítható, hogy a legkisebb méretű polimer részecskék előállítására legjobban a 120 kDa molekulatömegű PMMA polimerek felelnek meg a legjobban 193 nm-es lézerimpulzusokkal besugározva.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A dolgozatomban bemutatott kísérletek, biológiai és biokompatibilis vékonyrétegek impulzuslézeres leválasztása volt. Munkám során átfogó kísérletsorozatot végeztem a céanyagok megfelelő kémiai összetételű és szerkezetű vékonyrétegeinek leválasztásához, igazoltam a biológiai funkciók megőrzését és a rétegek lehetséges alkalmazására néhány példát mutattam be.

1. Humán fog leválasztása titán felületére impulzuslézeres vékonyréteg építéssel

Napjainkban az orvostudomány minden területén sokféle implantátumot alkalmaznak, melyek szervezetbe való beépülésének alapkövetelménye a biokompatibilitás. A tapasztalatok szerint azonban a fogimplantátumok az esetek bizonyos százalékában kilökődnek a szervezetből, vagyis a csontintegráció nem jön létre. Kísérletekkel bizonyítottam, hogy impulzuslézeres vékonyréteg építéssel lehetséges szervezetbarát bevonatot, fog-vékonyréteget előállítani titán korongokra fog anyagából készített céltárgyakból.

1.a Megmutattam, hogy vékonyréteg leválasztással az eredeti fog anyagához hasonló kémiai összetételű vékonyrétegeket lehet előállítani. A felvett infravörös spektrumok azonban azt mutatták, hogy a vékonyrétegekben az OH^- ion, víz és karbonát-tartalom kisebb, mint a céltárgy anyagában, ami azt jelenti, hogy a lézersugárzás okozta hőmérsékletnövekedés hatására H_2O és CO_2 szabadul fel a fog anyagából. Megállapítottam, hogy a karbonát tartalom növelhető utólagos, normál atmoszférán történő $550\text{ }^\circ\text{C}$ -os hőkezeléssel [T1].

1.b Kísérleteim azt mutatták, hogy a porból készített, nem hőkezelt céltárgyak préselésénél alkalmazott nyomás nagymértékben befolyásolja a réteg növekedési sebességét és a felületének érdességét is. Az utólagos hőkezelés azonban javítja a rétegek mechanikai ellenálló képességét [T1].

2. Pepszin leválasztása impulzuslézeres vékonyréteg módszerével

A biológiai anyagokkal végzett kísérletekben pontosan meg kell választani a rétegépítés paramétereit, mivel a PLD során nagy hőhatások érik a molekulákat és ily módon a kialakult változások elronthatják a rétegek biológiai funkcionalitását,

katalitikus képességét. Márpedig csak akkor beszélhetünk sikeres vékonyréteg növesztésről, ha a rétegek enzimatis hatása bizonyíthatóan megmarad.

2.a Infravörös spektroszkópiai vizsgálatokkal kimutattam, hogy az általam használt energiasűrűség értékeknél, a leválasztott vékonyrétegek megtartották az eredeti pepszin szerkezetére jellemző kémiai szerkezetüket.

2.b. A funkcionalitás megőrzésének ellenőrzésére végzett vizsgálataim alapján bebizonyítottam, hogy a $0,38$ és $1,22 \text{ J/cm}^2$ energiasűrűséggel leválasztott pepszin vékonyrétegek megtartották biológiai aktivitásukat, a kísérletben használt $20\mu\text{m}$ vastagságú főtt tojásfehérje rétegeket megemésztették, viszont $2,4 \text{ J/cm}^2$ -nél (és feltételezhetően ennél magasabb értékeknél) már elveszítették emésztési jellegüket [T2].

3. Biológiailag lebomló poli-hidroxi-butirát leválasztása impulzuslézeres vékonyréteg építéssel

Az élő szervezettel való érintkezés újfajta kihívást jelent az anyagkutatásnak. A fő kihívás a szövetbarát (biokompatibilis) bioanyagok kialakítása, megmunkálása és hogy minél inkább elősegítse a belőle készült eszköz sikeres működését az alkalmazás során. Jelen esetben az általam kísérleti anyagként választott poli-hidroxi-butirát (PHB) polimerrel végeztem rétegleválasztási kísérleteket.

3.a Demonstráltam, hogy impulzus lézeres vékonyréteg leválasztási technikával egy biológiailag lebomló polimerből, a poli-hidroxi-butirátból a céltárgy anyagához hasonló kémiai összetételű vékonyréteg választható le [T3].

3.b Megállapítottam az ehhez szükséges optimális energiasűrűség tartományt. Az infravörös spektrumok vizsgálata alapján kiderült, hogy az általam tanulmányozott energiasűrűség tartományból a $0,12 \text{ J/cm}^2$ körüli és annál kisebb értékek alkalmazása vezet PHB vékonyrétegek kialakulásához [T3].

3.c Ellipszometriás mérések alapján meghatároztam ezen anyag törésmutatójának és abszorpciós együtthatójának hullámhossz függését, melyre korábban nem volt irodalmi adat [T3].

4. Sejtmegtapadást és irányított sejtnövekedést elősegítő anyagok impulzuslézeres leválasztása

4.a Sejtmegtapadást segítő anyagokkal végzett kísérletekben demonstráltam, hogy femtoszekundumos PLD technikával olyan rétegek készíthetők, amelyek lehetővé

teszik különböző sejt kultúrákból kialakított rétegeken élő sejtek irányított megtapadását, szaporodását [T4].

4.b Kimutattam, hogy sejt megtapadást elősegítő anyagokból különböző struktúrájú vékonyrétegek alakíthatók ki maszk segítségével. Ezek alkalmazásával a későbbiekben adott funkciójú sejtekből lehet adott mintákat kialakítani, melyek a szövetépítés, regenerálódás területén lehetnek fontos alkalmazási lehetőségek [T4].

5. Poli-metil-metakrilát polimer ablációjával keltett részecskék, szemcsék vizsgálata

Végezetül egy kísérletsorozatot készítettem annak érdekében, hogy nanorészecskéket állítsak elő poli-metil-metakrilát polimerből. Megvizsgáltam, hogy milyen kísérleti paraméterek alkalmazásával érhető el a legkisebb méretű részecskék kiválása a polimer céltárgyakból. Három különböző hullámhosszúságú nanoszekundumos excimer lézert alkalmaztam a kísérletekben, változtatva az besugárzott céltárgy molekulatömegét és az alkalmazott energiasűrűségeket.

5.a Megmutattam, hogy a hordozón lerakódott részecskék mérete és mennyisége függ az alkalmazott lézer hullámhosszától és a polimer molekulatömegétől. Megállapítottam, hogy a céltárgyak 1000 lézerimpulzusssal történő besugárzása esetén a kisebb molekulatömegű PMMA céltárgyakból nagyobb méretű és mennyiségű polimer részecskék váltak le a hordozóra - mint nagyobb molekulatömegű polimerek esetén - ott PMMA vékonyréteget hoztak létre. A legkisebb méretű polimer részecskék előállítására 193 nm-es lézerimpulzusokkal besugározott 120 kDa molekulatömegű PMMA polimerek felelnek meg a legjobban.

7. SUMMARY

The main theme of my theses was the pulsed laser deposition of biological and biocompatible materials. During the present study I was working on different experiments with the aim of the deposition of thin films with proper chemical compositions and biological functions.

1. Pulsed laser deposition of human tooth onto titanium surface

In the recent years, the applications of implants are very common on many field of the medicine. The basic requirement from these is the biocompatibility to fit into to the living organism. According to the results of the tooth implants, it is very common that the human body does not accept the metal surface, (and the osteo-integration is not occurring) causing the rejection of the implants. I wanted to prove with my experiments that it is possible to create bio-, human tooth thin films by pulsed laser deposition onto titanium disks.

1. a It was shown that it is possible to make thin layers with similar chemical composition to the original tooth material using PLD method. The FTIR measurements proved that during the process of the deposition the amount of OH^- , H_2O and the carbonate is decreasing which means, that because of the raise of the temperature - caused by the laser radiation – H_2O and CO_2 will release from the material of the tooth. [T1].

1. b The CO_3 content can be increased with post annealing of the films at 550°C shown that the pressing pressure from 150 to 450 MPa led to the change of the deposition rate and the roughness of the deposited layers. With post annealing the resistance of the films could be improved against the mechanical effects [T1].

2. Pepsin thin films by PLD technique

During the PLD of biological materials the experimental parameters are very important, because the molecules have thermal effects and the formations can be damage the biological functions and catalytic ability of the layers. Successful thin film deposition

only can be done if we can prove that the enzymatic properties of the layers are remaining.

2. a I established by the infrared spectral measurements that under the used fluences the spectra of the deposited films at 0,5 and 1,3 J/cm² fluences are nearly identical over the entire studied spectral range, which means that the chemical composition of the samples is basically the same. The layers were investigated by optical and atomic force microscopy (AFM).

2. b It was shown that that the layers were contiguous, and the surfaces of the thin films appeared granular. To prove the biological activity, I used a glass chamber isolated from its environment filled with vapour of 0,4% HCl solution and the temperature was constant 37 °C corresponding to the temperature of the human stomach. Enzyme activity test proved that the majority of transferred enzyme retains its biological function in 0,38–1,22 J/ cm² range - but not on 2,43 J/ cm² - supporting the results of FTIR measurements. Probably the layers deposited on higher fluences losing their digestive properties, due to the strong damage effect of the laser irradiation [T2].

3. Pulsed laser deposition of biodegradable poly-hydroxy-butyrates

It is a new challenge for the material science to deal with the connection and interaction between living tissues and different materials. The main challenge is to create and process biocompatible materials with the aim to promote the successful function of device during the application. I was using poly-hydroxy-butyrates as a target material to deposit thin layers by PLD technique.

3.a It was demonstrated, that stoichiometric PHB layer can be produced by pulse laser deposition.

3.b I established the range of the optimal fluences to make these thin films. Infrared spectroscopic measurements proved that the important functional groups of the transferred biopolymer can be preserved during the PLD procedure using appropriate (0.12 J/cm²) fluence [T3].

3.c On the basis of the ellipsometric analysis the wavelength dependence of the refractive index, the extinction coefficient and also the absorption coefficient of the deposited PHB layer were determined. These are important information about the PHB because these parameters are not found in the scientific literature before [T3].

4. Pulsed laser deposition of cell growth promoting thin layers

4.a Thin films of cell growth-promoting substances were deposited using PLD. In this study I have shown that various biomaterials transferred by PLD methods onto silicon plates successfully guide the adhesion and growth of different cell types [T4].

4.b The deposited materials were Na-alginate, fibronectin, endothelial cell growth supplement and collagen embedded in starch matrix. It was shown that any kind of structure can be deposited from the target materials, using a mask. The results are suggesting that PLD method is suitable to build an architecture of substrates which supports and directs the growth of cells. The guided growth may enable the cells to induce directed and rapid repair of injured tissues [T4].

5. Characterization of particle ejection in the UV nanosecond ablation of PMMA

With the aim of creating nano particles of the poly-methyl-metacrylate, I was using a standard pulsed laser deposition setup to make the deposits. I was investigating the size and the properties of the deposited particles.

5.a I was investigated that what kind of experimental parameters causing the smallest ejected particles from the polymer target. In the experiments I was using three different type of excimer laser with wavelengths of 193, 248 and 308 nm to irradiate the target materials. The targets were made of different molecular weight of PMMAs and the applied fluences were changed during the depositions.

5.b I established that the smallest particles were ejected from the PMMA using ArF excimer laser beam at $0,1 \text{ J/cm}^2$ fluence [T5].

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném köszönetemet és hálámat kifejezni témavezetőmnek, *Dr. Hopp Bélának*, hogy már egyetemi hallgató koromtól kezdve támogatott, tanított, és megismertette velem a kutatói munka szépségeit. Valahányszor akadályba ütköztem, mindig voltak újabb ötletei, amelyekkel a nehézségeken átgépet.

Köszönöm az Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék vezetőinek, *dr. Bor Zsoltnak* és *dr. Rácz Bélának*, hogy a kutatásaimhoz szükséges erőforrások, eszközök a tanszéken a rendelkezésemre álltak.

Szeretném köszönetemet kifejezni *Dr. Smausz Kolumbán Tominak* és *Dr. Kresz Norbertnek* a kísérletek elvégzésében, az eredmények kiértékelésében nyújtott segítségéért.

Köszönettel tartozom *Dr. Budai Juditnak* az értekezéssel kapcsolatos számtalan megjegyzéséért, javaslatáért.

Köszönöm *dr. Tóth Zsoltnak* az ellipszometriás mérések elvégzésében és kiértékelésében nyújtott segítségét.

Köszönöm *dr. Berkesi Ottónak* az infravörös spektroszkóp használatának lehetőségét és a spektrumok kiértékelésével kapcsolatos megjegyzéseit, valamint, hogy rendelkezésemre bocsátotta a céltárgyaim előállításához szükséges tablettaprést.

Köszönöm *Dr. Nógrádi Antalnak*, *Dr. Szabó Andrásnak* és *Dr. Kolozsvári Lajosnak* a biológiai mintákkal végzett kísérleteimben nyújtott segítségüket.

Köszönöm *dr. Costas Fotakisnak*, hogy rendelkezésemre bocsátotta a vezetése alatt álló krétai FORTH kutatóintézet laboratóriumainak eszközeit. Köszönöm *Dr. Savas Georgiounak* polimerekkel végzett kísérleteim során nyújtott segítségét.

Köszönöm *Családomnak* és *Barátaimnak*, hogy bátorítottak, hogy támogattak és elviseltek rossz napjaimon, és legfőképp, hogy rengeteg terhet levettek a vállamról.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném köszönetemet kifejezni a tanszék minden dolgozójának - legyen oktató, kutató, irodai dolgozó vagy szakmunkás - segítségükért, és a kellemes légkörért, a jó hangulatért, mely nagyban hozzájárult a munkám elvégzéséhez és a dolgozatom megírásához.

9. HIVATKOZÁSOK

- [1] <http://www.chem.elte.hu/departments/altkem/foklab/FOK10.htm>
- [2] <http://www.sulinet.hu/eletestudomany/archiv/2001/0111/tudvil/vekony/vekony.html>
- [3] Mohammed Hoseini, Anneli Jedenmalm, Antal Boldizar, *Wear*, Volume 264, Issues 11-12, 10 May 2008, Pages 958-966
- [4] N. Hallab, K. Merritt, J. J. Jacobs: *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 83:428 (2001)
- [5] L. Möllersten, P. Lockowandt, L.A. Linden, *The Journal of Prosthetic Dentistry* Vol 78: 6 (1997)
- [6] *Surface and Coatings Technology*, Volume 201, Issues 9-11, 26 February 2007, Pages 5607-5612 K. W. K. Yeung, R. W. Y. Poon, X.M. Liu, Paul K. Chu, C.Y. Chung, X.Y. Liu, S. Chan, W. W. Lu, D. Chan, K. D. K. Luk, K. M. C. Cheung
- [7] G. Mani, M. D. Feldman, D. Patel, C. M. Agrawal, *Biomaterials* 28 (2007) 1689-1710
- [8] Brian Douglas Jackson: *Pulsed laser deposition of silicon Dioxide thin films using the Molecular Flourine Laser* (1997)
- [9] M. Gingham, N. Verma, A. K. Garg, N. Redhu, *Sensors and Actuators B* 134 (2008) 345-351
- [10] <http://www.pcgg.de/download/publication4.pdf>
- [11] T. Szörényi, Zs. Geretovszky, *Thin Solid Films* 431 (2004) 453-54
- [12] R. Srinivasan and V. Mayne-Banton, *Appl. Phys. Lett.* 41, 576 (1982)
- [13] R. Srinivasan, B. Braren, *Chem. Rev.* 89 (1989), 1303-1316
- [14] P. F. Conforti, M. Prasad, B. J. Garrison, *Applied Surface Science* 253 (2007) 6386–6389
- [15] G. H. Pettit, R. Sauerbrey: *Appl. Phys.* A56 (1993) 51
- [16] S. R. Cain, F.C. Burns, C.E. Otis, B. Brasen: *J. Appl. Phys.* 72 (1992) 5172
- [17] http://halozatialapok.blogter.hu/140169/lezer_a_wireless_alapok
- [18] Christa Habrich, *Curing with Lasers and Shock Waves” – A new exhibition in the German Museum of the History of Medicine in Ingolstadt, Medical Laser Application*, In Press, Corrected Proof

- [19] A. Katzir: Optical fibers in medicine, SPIE Optical Engineering Press, 1990
- [20] http://halozatialapok.blogter.hu/140169/lezer_a_wireless_alapok
- [21] H. K. Soong, J. B. Malta, American Journal of Ophthalmology, Volume 147, Issue 2, February 2009, Pages 189-197.e2
- [22] <http://www.vitalcare.hu/laser.html>
- [23] <http://www.wakelasik.com/lasik.html>
- [24] R. Kaufmann, Medical Laser Application, Volume 20, Issue 2, 8 June 2005, Pages 103-109
- [25] R. S. Narins, D. J. Narins, Aesthetic Surgery Journal, Volume 24, Issue 3, May-June 2004, Pages 281-284
- [26] <http://www.plasztika.deltav.hu/borfiatal/index.html>
- [27] Maravelaki-Kalaitzaki, V. Zafiropulos, C. Fotakis Applied Surface Science, Volume 148, Issues 1-2, (1999) 92-104
- [28] P. Bracco, G. Lanterna, M. Matteini, K. Nakahara, O. Sartiani, A. de Cruz, M. L. Wolbarsht, E. Adamkiewicz, M. P. Colombini, Journal of Cultural Heritage, Volume 4, Supplement 1, January 2003, Pages 202-208
- [29] http://www.bzlogi.hu/bzaka/bzaka_files/File/Portfolio/BAY-ATI/szolgalatas_laser.pdf
- [30] http://physics.ttk.pte.hu/cikkek/Marton_poszter.pdf
- [31] D. Lichtman and J. F. Ready, Phys. Rev. Lett. 10, 342-345 (1963)
- [32] G. A. Asker'yan, A. M. Prokhorov, et al., "Laser beam in a liquid," Zh. Eksp. Teor. Fiz. 44, No. 6 (1963)
- [33] R. G. Meyerand, A. F. Haught, Phys. Rev. Lett. 11., 401 (1963)
- [34] F. Breech, L. Cross: Appl. Spect. 16, 59 (1962)
- [35] H. M. Smith, A. F. Turner, appl. Opt. 4 (1965) 147-148
- [36] Walter Koechner, Michael Bass: Solid state lasers, Springer (2003)
- [37] D. Bäuerle: „Laser Processing and Chemistry”, ISBN 3-540-66891-8 3th Edition Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York
- [38] G. Hass, J. B. Ramsy, Appl. Opt. 8, 1115-1118 (1969)
- [39] H. Schwarz and H. A. Tourtellotte, J. Vac. Sci. Technol. 6, 373. (1969)
- [40] J. T. Cheung, T. Magee, J. Vac. Sci. Technol. A 1 (1983) 1604
- [41] J. J. Dubowski, D. F. Williams, P. B. Sewell, P. Norman, Appl. Phys. Lett. 46, 1081 (1985)

- [42] D. Lubben, S. A. Barnett, K. Suzuki, S. Gorbalkin and J. E. Greene. J. Vac. Sci. Technol. B 3 (1985)
- [43] D. K. Fork, D. B. Fenner, G. A. N. Connell, J. M. Phillips, T. H. Geballe, Appl. Phys. Lett. 57 (1990) 1137-1139
- [44] D.K. Fork and T. H. Geballe. Appl. Phys. Lett. 60 (1992)
- [45] W. Prusseit et al., Appl. Phys. Lett. 61, 1841 (1992)
- [46] J. Narayan, P. Tiwari, X. Chen, J. Singh, R. Chowdhurt, T. Zheleva:. Appl. Phys. Lett. 61, 1290 (1992)
- [47] A. Rengan, J. Narayan, C. Jahnke, S. Bedge, J. L. Park, M. Li: Mater. Sci. Eng. B 15, 15 (1992)
- [48] Hansen, S. G. ; Robitaille, T. E. Appl. Phys. Lett. 1988, 52, 81-83.
- [49] D. S. Mirsa, S. B. Palmer, Physica C 179, (1991), 43
- [50] M. Shen, T. Bell, ACS Symp. Ser. 108 (1979), 1
- [51] H. Yasuda, Plasma Polymerization, Academic Press, Orlando, 1985
- [52] Malhotra et al. , J. Appl. Polymer Sci. (1990) 40(5-6): 1049-1052
- [53] S. Tatsuura, W. Sotoyama, T. Yoshimura, appl. Phys. Lett. 60, (1992) 1661
- [54] D.M. Bubb, B. Toftmann, R. F. Haglund, J. S. Horwitz, M.R. Papantonakis, R. A. McGill, P.W. Wu, D.B. Chrisey, Appl. Phys. A Mater. Sci. Process. 74 (1) (2002) 123–125
- [55] A. L. Mercado, C.E. Allmond, J. G. Hoekstra, J. M. Fitz-Gerald, Appl. Phys. A Mater. Sci. Process, 81 (3) (2005) 591-599
- [56] R. Cristescu, G. Socol, I. N. Michalescu, M. Popescu, F. Sava, E. Ion, C. O. Morosanu, I. Stamatina, Appl. Surf. Sci. 208-209 (2003) 645-650
- [57] E. süske, T. Scharf, P. Scharf, E. Panchenko, D. Nelke, M. Buback, H. Kijewski, H. U. Krebs, Appl. Phys. A 79 (2004) 121-123
- [58] D.M. Bubb, B.R. Ringeisen, J. H. Callahan, M. Galicia, A. Vertes, J. S. Horwitz, R. A. McGill, E. J. Houser, P.K. Wu, A. Pique, D.B. Chrisey, Appl. Phys. A Mater. Sci. Process. 73 (1) (2001) 121–123
- [59] Z. M. Ren, Y.F. Lu, Z. H. Mai, S. C. Ng, P. Miao, S. I. Pang, J. P. Wang, T. C. Chong, Surf. Coat. Technol. 125 (1–3) (2000) 388–391
- [60] T. Smausz, B. Hopp, N. Kresz, J. Phys. D: Appl. Phys. 35 (2002) 1859-1863
- [61] R. W. Nelson, R. M. Thomas, P. Williams: Rapid Commun. Mass. Spectrom. 4, 348 (1990)

- [62] R. S. Phadke, G. Agarwal: Mater. Sci. Eng. C 5, 237 (1998)
- [63] G. Agarwal, R. S. Phadke: Mater. Sci. Eng. C 6, 13 (1998)
- [64] Y. Tsuboi, M. Goto, A. Itaya: Chem. Lett. 6, 521 (1998)
- [65] Yasuyuki, G. Masaharu, I. Akira, Journal of Applied Physics, 89, 12, 7917-7923, (2001)
- [66] C.M. Cotell, D.B. Chrisey, K.S. Grabowski, J.A. Sprague, C.R. Gossett, J. Appl. Biomater. 3_1992.87
- [67] M. Bereznai, I. Pelsöczy, Z. Tóth, K. Turzó, M. Radnai, Z. Bor, A. Fazekas: Biomaterials 24, 4197 (2003)
- [68] D. Buser, R. K. Schenk, S. Steinmann, J. P. Fiorellini, C. H. Fox, H. Stich: J. Biomed. Mater. Res. 25, 889 (1991)
- [69] V. Salih, G. Georgiou, J. C. Knowles, I. Olsen: Biomaterials 22, 2817 (2001)
- [70] T. M. Sridhar, U. Kamachi Mudali, M. Subbaiyan: Corros. Sci. 45, 237 (2003)
- [71] M. Hamdi, A. M. Ektessabi: Thin Solid Films 398–399, 385 (2001)
- [72] D. B. Chrisey, A. Pique, R. A. McGill, J. S. Horowitz, B. R. Ringeisen, Chem. Rev. 103 (2003) 553-576
- [73] B Hopp, T. Smausz, G. Kecskemeti, A. Klini, Zs. Bor, Appl. Surf. Sci. 253 (2007) 7806-7809
- [74] Gáspár Lajos (szerk.): Lasersebészet / Springer (1998)
- [75] Fogászat, Dr. Tóth Károly (szerk.), Medicina Könyvkiadó 1981
- [76] Otto Neumüller, H. Römpf: Römpf Vegyészeti Lexikon, 3. kötet, 658-659, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1983
- [77] <http://xray.biochem.ualberta.ca/~maia/#pdb1psn>
- [78] http://www.biocristalografia.df.ibilce.unesp.br/walter/asp/represent_asite.jpg
- [79] Élelmiszer kémia 1., 565, Mezőgazda kiadó (1992)
- [80] http://www.janus-pecs.sulinet.hu/Linkek/Az_ember_taplalkozasa.html
- [81] <http://adattar.atestor.hu:81/cikkek/15.pdf>
- [82] L. Bosiers and S. Engelmann, Thermoformed packaging made of PLA, Kunststoffe Plast Europe 12 (2003), 21–24
- [83] <http://www.kfki.hu/chemonet/osztaly/eloadas/bdp.html> - Pukánszky Béla: Biológiai lebontható csomagolóanyagok (BDP)
- [84] <http://www.mindentudas.hu/czvikovszkytibor/20051002czvikovszky1.html?pid=9>

- [85] <http://index.hu/tudomany/biobakt37828>
- [86] http://www.inc.bme.hu/hu/subjects/biokomp/Biocomp_9.pdf
- [87] <http://www.kislexikon.hu/kemenyito.html>
- [88] <http://hmika.freeweb.hu/Lexikon/Html/AlginSav.htm>
- [89] <http://www.sci.u-szeged.hu/zoolcell/sbea/04/04.htm>
- [90] <http://www.kfki.hu/chemonet/hun/olvaso/kemia/anti.html>
- [91] <http://www.naturtanya.hu/termekbo.php?id=226>
- [92] B. Mayor, J. Arias, S. Chiussi, F. Garcia, J. Pou, B. Leon Fong, M. Perez-Amor: *Thin Solid Films* 317, 363 (1998)
- [93] D. G. A. Nelson, J. D. B. Featherstone: *Calcif. Tiss. Int.* 34, 69 (1982)
- [94] G. Socrates, *Infrared Characteristic Group Frequencies* (J. Wiley and Sons, Chichester), 1980, p. 68-71
- [95] J. H. Schachtschneider, R. G. Snyder, *Spectrochim. Acta* 19 (1963) 117

A tézispontokhoz kapcsolódó referált folyóiratcikkek:

- [T1] Smausz T., Hopp B., Huszár H., Tóth Z., Kecskeméti G.: „*Pulsed laser deposition of bioceramic thin films from human tooth*”, *Appl. Phys. A* 79, 1101-1103 (2004)
- [T2] Kecskeméti G., Kresz N., Smausz T., Nógrádi A., Hopp B.: „*Pulsed laser deposition of pepsin thin films*”, *Appl. Surf. Sci. Vol 247, Issues 1-4*, 83-88 (2005)
- [T3] Kecskeméti G., Smausz T., Kresz N., Tóth Zs., Hopp B., Chrisey D., Berkesi O.: „*Pulsed laser deposition of polyhydroxybutyrate biodegradable polymer thin films using ArF excimer laser*”, *Appl. Surf. Sci. Vol. 253* (2006) 1185–1189
- [T4] Nógrádi A., Hopp B., Smausz T., Kecskeméti G., Bor Z., Kolozsvári L., Szabó A., Klini A., Fotakis C.: „*Directed Cell Growth on Laser-Transferred 2D Biomaterial Matrices*” *Open Tissue Engineering*, 2008, 1, 1-7
- [T5] Kecskeméti G., Semilis A., Georgiou S.: „*Ejection and deposition of particles in the UV nanosecond excimer ablation of Poly(methyl methacrylate) and Polystyrene (PS)*” előkészületben

További referált folyóiratcikkek:

- [6] T. Smausz, B. Hopp, G. Kecskeméti, Z. Bor: „*Study on metal microparticle content of the material transferred with Absorbing Film Assisted Laser Induced*

Forward Transfer when using silver absorbing layer” Applied Surface Science, Volume 252, Issue 13, 30 April 2006, Pages 4738-4742

- [7] B. Hopp, T. Smausz, G. Kecskeméti, A. Klini, Zs. Bor: „*Femtosecond pulsed laser deposition of biological and biocompatible thin layers*” Applied Surface Science, Volume 253, Issue 19, 31 July 2007, Pages 7806-7809
- [8] I. A. Paun, A. Selimis, G Bounos, G. Kecskemeti, S. Georgiou „*Nanosecond and Femtosecond UV Laser Ablation of Polymers: Influence of Molecular Weight*“,Appl. Surf. Sci. közlésre elfogadva